


ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

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

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

Тарзиманова Аида Ильгизовна

Москва – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1. Хроническая сердечная недостаточность и пневмония: современное состояние проблемы.....	12
1.2. Механизмы развития сердечной–сосудистых осложнений у пациентов с хронической сердечной недостаточностью и пневмонией.....	18
1.3. Роль <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в развитии ферроптотического повреждения клеток: молекулярные механизмы и новые перспективы лечения.....	26
1.4. Значение ферроптоза в развитии сердечно–сосудистых осложнений	36
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	42
2.1. Клиническая характеристика пациентов	42
2.2. Дизайн диссертационного исследования.....	48
2.3. Методы обследования.....	51
2.3.1. Эхокардиографическое исследование.....	51
2.3.2. Диагностика поражения дыхательной системы.....	52
2.3.3. Диагностика поражения головного мозга	52
2.3.4. Диагностика тромбоза вен нижних конечностей.....	53
2.3.5. Диагностика лабораторных маркеров хронической сердечной недостаточности	53
2.4. Исследование модели ферроптотического повреждения клеток бронхиального эпителия при инфекции <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	53
2.4.1. Культура клеток.....	53
2.4.2. Штаммы бактерий	54
2.4.3. Сбор супернатанта <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	54
2.4.4. Эксперименты по нокдауну с помощью siРНК	54
2.4.5. Сверхэкспрессия iNOS.....	55
2.4.6. Анализ активности ферроптоза	55

2.4.7. Анализ активных форм кислорода при перекисном окислении липидов с помощью BODIPY–C11	56
2.4.8. Совместное культивирование клеток	56
2.4.9. Вестерн–блот анализ	57
2.4.10. Флуоресцентная микроскопия	58
2.4.11. Анализ фосфолипидов методом жидкостной хроматографии с тандемной масс–спектрометрией.....	58
2.5. Статистическая обработка данных	59
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ.....	61
3.1. Механизмы ферроптотической гибели клеток, обусловленной инфицированием <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , в эксперименте	61
3.2. Значение экспрессии оксида азота в защите клеток эпителия от ферроптотической гибели	64
3.3. Значение пневмонии, обусловленной <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , в развитии сердечно–сосудистых осложнений у больных с хронической сердечной недостаточностью	78
3.4. Роль снижения инотропной функции миокарда в развитии сердечно–сосудистых осложнений в исследуемых группах.....	82
3.5. Влияние воспаления и дыхательной недостаточности на развитие сердечно–сосудистых осложнений у больных с хронической сердечной недостаточностью и пневмонией	85
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	95
4.1. Механизмы ферроптотического повреждения клеток при инфекции <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	95
4.2. Сердечно–сосудистые осложнения у пациентов с хронической сердечной недостаточностью и пневмонией, вызванной <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	104
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	112
ВЫВОДЫ	113
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	114
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	115

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	117
------------------------	-----

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) одно 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 [1].

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 [2]. Установлено, что у больных, госпитализированных с декомпенсацией ХСН, появление внутрибольничной пневмонии определяет частоту сердечно-сосудистых осложнений и исходы заболевания [3]. 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 [4].

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 [5].

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 [6,7,8], однако до настоящего времени не был исследован механизм развития ферроптотической гибели клеток, индуцированный *P. aeruginosa*, и его влияние на сердечно–сосудистые осложнения (ССО). Определение предикторов 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 [9]. Ферроптоз изучается не только в контексте сердечно–сосудистых заболеваний, но и в рамках противоопухолевой терапии, заболеваний желудочно–кишечного тракта, нервной системы, легких [10]. 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 гипопротеинемия являются независимыми предикторами развития сердечно–сосудистых осложнений у больных с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*.

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).

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.

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.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Хроническая сердечная недостаточность и пневмония: современное состояние проблемы

Ежегодно сердечно–сосудистые заболевания являются причиной смерти 17,9 миллионов человек во всем мире, что составляет 32% от общего числа летальных исходов [11, 12]. Большой вклад в сердечно–сосудистую смертность вносит ХСН, так как медиана продолжительности жизни при ХСН I–II ФК составляет 8,4 (95% ДИ: 7,8–9,1) года, а при ХСН III–IV ФК – 3,8 (95% ДИ: 3,4–4,2) года [1].

Значительный рост заболеваемости ХСН в последние десятилетия свидетельствует о ее высокой социальной значимости. Годовой экономический ущерб, обусловленный ХСН, оценивается в размере 81,86 миллиардов рублей, из которых 73,6 % относятся к затратам на частые госпитализации. У пациентов с ХСН со сниженной фракцией выброса левого желудочка (СНнФВ) затраты на медицинскую помощь на 56% выше, чем у пациентов с ХСН с сохраненной фракцией выброса левого желудочка (СНсФВ) [13].

Смертность пациентов с ХСН увеличивается с возрастом – 7,4% у больных среднего возраста и достигает 19,5% у лиц старшей возрастной группы. За последние 20 лет отмечена положительная тенденция к уменьшению смертности от ХСН среди пациентов среднего возраста [14].

Для патогенеза ХСН характерна активация симпатoadреналовой и ренин–ангиотензин–альдостероновой системы (РААС), повышение уровня эндотелина, вазопрессина и цитокинов. Активация РААС и симпатической нервной системы приводят к периферической вазоконстрикции, задержке натрия и жидкости, увеличению объема циркулирующей крови и значительному повышению нагрузки на левый желудочек, индуцируя к апоптоз кардиомиоцитов, усиление фиброобразования и дальнейшее ремоделирование миокарда. Кроме миокардиального повреждения активация нейрогуморальных систем оказывает неблагоприятное влияние на сосудистое русло, почки, мышцы, костный мозг,

легкие и печень, приводя к полиорганной недостаточности, ухудшению качества жизни и уменьшению ожидаемой продолжительности жизни. Тяжесть симптомов ХСН не всегда коррелирует с фракцией выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) [15].

В настоящее время активно обсуждается значение окислительного стресса в патогенезе ХСН. В ряде экспериментальных и клинических исследований была продемонстрирована повышенная продукция активных форм кислорода (АФК), которые негативно влияют на обмен кальция в кардиомиоцитах, повышают риск развития аритмии и способствуют ремоделированию миокарда [15–17]. Например, в исследовании Полуниной Е.А. и соавт. (2018) было выявлено изменение уровня маркеров окислительного стресса уже на ранних этапах развития ХСН по сравнению с группой контроля, при этом наиболее выраженные изменения уровня изучаемых маркеров регистрировались у пациентов со сниженной ФВ ЛЖ [16].

Несмотря на появление новых лекарственных препаратов для лечения ХСН качество жизни и прогноз большинства пациентов со сниженной ФВ ЛЖ остается неудовлетворительным [18]. В исследовании Gerber Y. и соавт. (2015) было доказано, что 1–летняя и 5–летняя летальность после постановки диагноза ХСН составила 20% и 53% соответственно [19].

В исследовании Tsao C.W. и соавт. (2018), объединившем Framingham Heart Study и Cardiovascular Health Study, сообщается, что 5–летняя летальность после постановки диагноза ХСН составляет 67% [20]. Более благоприятный прогноз наблюдался у пациентов женского пола с промежуточной ФВ ЛЖ. В мета–анализе MAGGIC было показано, что риск летального исхода у пациентов с СНсФВ значительно ниже, чем у пациентов с СНнФВ [18].

В мировой литературе имеются противоречивые данные по поводу частоты госпитализаций пациентов с ХСН [18–21]. В исследовании Gerber Y. и соавт. (2015) было показано, что средний уровень госпитализаций больных с ХСН составил 1,3 человеко–лет [19]. Причиной частых госпитализаций является декомпенсация ХСН, которая возникает достоверно чаще у коморбидных пациентов с сахарным диабетом, ФП, ожирением, хронической болезнью почек [22]. Тяжелый сепсис и пневмония также способствуют декомпенсации ХСН. Результаты

многоцентровых эпидемиологических исследований дают основания полагать, что число госпитализаций по поводу декомпенсации ХСН в ближайшие 25 лет может вырасти на 50% [18].

Важным фактором декомпенсации ХСН, а также причиной значительного повышения смертности в 2020–2021 годах стала пандемия коронавирусной инфекции SARS–CoV–2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, тяжелый респираторный синдром коронавируса 2 типа). Существует несколько потенциальных механизмов, объясняющих кардиотоксические эффекты вируса SARS–CoV–2, включающие прямое вирусное и иммуноопосредованное повреждение, приводящее к воспалению с последующим повреждением миокарда, ишемию вследствие дыхательной недостаточности и гипоксемии и аутоиммунные реакции [23]. В обсервационных исследованиях и ретроспективных анализах было показано, что внедрение вакцинации против COVID–19 (новая коронавирусная инфекция «Coronavirus disease 2019») и гриппа ассоциировано со снижением риска смерти от всех причин у пациентов с ХСН [24].

К факторам неблагоприятного прогноза при ХСН относят развитие пневмонии. Анализ некардиальных причин смертности у больных с ХСН показал, что заболевания легких инфекционной и неинфекционной природы являются ведущей причиной смерти причем, как непосредственной, так и обусловленной прогрессией коморбидных состояний. Сочетание ХСН и пневмонии не только оказывает выраженное негативное влияние на отдаленный и ранний прогноз, но и изменяет типичную клиническую картину, что, в свою очередь затрудняет диагностику и лечение. Определенные трудности представляет и диагностика пневмонии на фоне ХСН, так как наличие сердечной недостаточности нередко маскирует симптомы основного заболевания и затрудняет его своевременную верификацию [25].

При пневмонии у пожилых пациентов может выявляться микст–инфекция двумя и более возбудителями. Она может быть вызвана как несколькими различными бактериальными возбудителями, так и их сочетанием с

респираторными вирусами. Пневмония, вызванная группой возбудителей, характеризуется более тяжелым течением и худшим прогнозом [26].

Среди наиболее патогенных возбудителей считают бактерию *P. aeruginosa*, которая является возбудителем как внебольничной, так и внутрибольничной (нозокомиальной) пневмонии. Согласно эпидемиологическим исследованиям, заболеваемость внебольничной пневмонией в России составляет 410 на 100 тыс. населения, при этом распространенность среди лиц пожилого возраста значительно выше, чем у молодых. В структуре смертности от болезней органов дыхания на долю пневмоний в 2019 году в России приходилось 41,9%, а наиболее высокий риск летального исхода наблюдался у коморбидных пациентов с ХСН. По данным проспективных исследований, основными факторами риска неблагоприятного прогноза у пациентов с тяжелой внебольничной пневмонией были: возраст старше 70 лет, проведение искусственной вентиляции легких, двусторонняя локализация пневмонии, сепсис и инфицирование *P. aeruginosa* [27].

В исследовании Подзолкова В.И. и соавт. (2024) было показано, что наличие внебольничной пневмонии у пациентов с ХСН не только увеличивает риск летального исхода, но и является фактором риска неблагоприятного отдаленного прогноза. Отрицательное влияние пневмонии сохранялось на протяжении 3 лет наблюдения. Хотя пневмония в данном исследовании не оказывала статистически значимого влияния на уровни N-терминального фрагмента мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP) и нового биомаркера декомпенсации ХСН, растворимого рецептора стимулирующего фактора роста, экспрессируемого геном 2 (sST2), повышение маркеров наряду с возрастом старше 75 лет и снижением ФВ ЛЖ <40%, являлись дополнительными факторами неблагоприятного прогноза у больных с ХСН и пневмонией [28].

В исследовании Мог А. и соавт. (2013), включавшем 67 162 пациента, госпитализированных по поводу пневмонии, было показано, что у пациентов с ХСН риск госпитализации по поводу пневмонии в 2 раза выше, чем в общей популяции (отношение шансов (ОШ) 1,81; 95% доверительный интервал (ДИ): 1,76–1,86). При этом ОШ развития пневмонии было ниже у пациентов, получавших

только тиазидные диуретики (ОШ = 1,56; 95% ДИ: 1,46–1,67), по сравнению с пациентами, лечение которых включало петлевые диуретики и дигоксин (ОШ = 1,95; 95% ДИ: 1,85–2,06), и/или петлевые диуретики и спиронолактон (ОШ = 2,02; 95% ДИ: 1,90–2,15). Популяционный риск госпитализаций по поводу пневмонии, вызванной сердечной недостаточностью составил 6,2% [29].

Нозокомиальная пневмония – ведущая причина смерти от госпитальных инфекций у полиморбидных пациентов. Частота нозокомиальной пневмонии колеблется от 5 до 20 случаев на 1000 госпитализаций и увеличивается у пожилых пациентов и больных, получающих иммуносупрессивную терапию. Примерно треть случаев нозокомиальной пневмонии, большинство из которых составляет вентилятор–ассоциированная пневмония (ВАП), диагностируется в отделении интенсивной терапии.

По данным эпидемиологических исследований, проведенных в США, частота возникновения ВАП составляет 2–16 эпизодов на 1000 дней нахождения на искусственной вентиляции легких (ИВЛ). Риск ВАП составляет 3% в течение первых 5–ти дней нахождения на ИВЛ, 2% с 5–го по 10–й день и 1% в остальные дни. Нозокомиальная пневмония увеличивает продолжительность госпитализации и затраты на здравоохранение: средние расходы на госпитализацию одного пациента с ВАП увеличились примерно на 40 000 долларов США, а средняя стоимость ВАП составила 9 969 долларов США. По разным оценкам смертность при нозокомиальной пневмонии может достигать 70%. При этом, от трети до половины всех летальных исходов, связанных с ВАП, являются прямым следствием инфекции, а смертность выше в случаях присоединения *P. aeruginosa* и *Acinetobacter spp.* [30].

В исследовании Chen С.У. и соавт. (2022) была проведена оценка прогностических факторов смертности у тяжелых пациентов с нозокомиальной пневмонией, вызванной карбапенем–резистентными грамотрицательными бактериями, наиболее распространенными из которых были *Acinetobacter baumannii* (78,7 %) и *P. aeruginosa* (13,0 %). Значимыми предикторами смертности по результатам многофакторного анализа являлись длительность пребывания в

стационаре до развития пневмонии более 9 дней (ОШ = 2,18; 95% ДИ 1,53–3,10), более 7 баллов по шкале динамической оценки органной недостаточности (SOFA) (ОШ = 2,36; 95% ДИ 1,65–3,37), поддерживающая терапия с вазопрессорной поддержкой (ОШ = 3,21; 95% ДИ 2,26–4,56) и эскалация антимикробной терапии (ОШ = 0,71; 95% ДИ 0,50–0,99) [31].

В обсервационном исследовании Alvarez P.A. и соавт. (2023) при обследовании 7 228 521 пациентов с ХСН, внутрибольничная инфекция была диагностирована у 1 806 514 (24,9%) больных. Присоединение внутрибольничной инфекции чаще наблюдалось у женщин, пожилых и полиморбидных пациентов. Нозокомиальная инфекция являлась причиной более продолжительного пребывания в стационаре (6,9 против 5,7 дней, $p < 0,001$), высокой стоимости лечения (14 305 против 11 760 долларов, $p < 0,001$) и высокой внутрибольничной смертности (2,6 против 1,6%, $p < 0,001$). Однако в данном исследовании не проводилась оценка сердечно–сосудистых осложнений у больных с ХСН и внутрибольничной пневмонией [32].

По данным ретроспективного исследования Polovina M. и соавт. (2023), в которое были включены пациенты с острой сердечной недостаточностью, находившиеся в отделении интенсивной терапии, внутрибольничная пневмония является частым осложнением (21,5%) госпитализации. Чаще присоединение внутрибольничной инфекции наблюдалось у пациентов с вновь возникшей острой сердечной недостаточностью, а тяжесть течения определялась выраженностью застойных явлений, уровнем NT–proBNP, наличием митральной регургитации и сопутствующих заболеваний (сахарный диабет 2 типа, хроническая болезнь почек, инсульт/транзиторная ишемическая атака в анамнезе). По данным авторов, развитие пневмонии ассоциировано с большей потребностью в гемодинамической и респираторной поддержке, более длительной госпитализацией и значительно увеличенной внутрибольничной смертностью [33].

В исследовании Tada A. и соавт. (2020) у пациентов с острой сердечной недостаточностью и нозокомиальной пневмонией, чаще регистрировалась внутрибольничная смерть (12% против 1%) и наблюдалось утяжеление ХСН во

время госпитализации (28% против 7%) по сравнению с пациентами без пневмонии. Такие пациенты также более длительно находились на стационарном лечении. Присоединение внутрибольничной пневмонии было независимым предиктором летального исхода по любой причине после выписки из стационара. Факторами риска возникновения нозокомиальной пневмонии были пожилой возраст, мужской пол, лейкоцитоз и увеличение уровня С-реактивного белка при поступлении [34].

Была продемонстрирована роль социальных факторов в развитии неблагоприятных исходов у пациентов после госпитализации по поводу пневмонии или ХСН. В систематическом обзоре Calvillo–King L. и соавт. (2013) был выявлен широкий спектр причин, ассоциированных с повторной госпитализацией или летальным исходом, а именно пожилой возраст, низкий социально–экономический статус, неблагоприятное социальное положение (например, нестабильное жилье, отсутствие социальной поддержки), вредные привычки [35].

Таким образом, возникновение пневмонии у пациентов с ХСН является одним из ведущих факторов неблагоприятного прогноза и частой причиной летального исхода. Изучение патогенетических механизмов развития сердечно–сосудистых осложнений у больных с ХСН и пневмониями является одной из наиболее актуальных задач современной кардиологии.

1.2. Механизмы развития сердечной–сосудистых осложнений у пациентов с хронической сердечной недостаточностью и пневмонией

До начала XX века продолжительность жизни человека составляла менее 50 лет, при этом частыми причинами смерти были инфекционные заболевания. Увеличение продолжительности жизни способствовало росту числа больных с сердечно–сосудистыми заболеваниями, а появление антибактериальной терапии позволило предотвратить большое количество летальных исходов, связанных с инфекционными осложнениями.

Известно, что бронхолегочными инфекциями и хроническими сердечно–сосудистыми заболеваниями страдают преимущественно пациенты среднего и пожилого возраста, более половины пожилых пациентов, госпитализированных с пневмонией, имеют хронические заболевания сердца [36,37].

Несмотря на достижения в создании новых антибактериальных препаратов, пневмония, названная сэром Уильямом Ослером «другом стариков», остается одним из самых тяжелых заболеваний у коморбидных пациентов [38,39]. Острые респираторные инфекции, включая пневмонию, часто предшествуют развитию ССО. Возникновение пневмонии в 4 раза увеличивает риск ССО в течение первого месяца госпитализации [3, 39] и более чем в 100 раз в первые 3 дня госпитализации [40, 41]. Частота развития инфаркта миокарда (ИМ) в 5 раз выше среди больных с пневмонией, чем у пациентов без инфекционных заболеваний легких [42].

Точные механизмы, лежащие в основе ССО у пациентов с пневмонией, до конца не изучены. В ряде работ было показано, что развитие ССО взаимосвязано с полиморбидностью пациентов, тяжестью пневмонии и реакцией организма на инфекцию. После возникновения пневмонии организм оказывается в состоянии относительной гипоксемии из–за альвеолярной консолидации, которая влияет на вентилиационно–перфузионное соотношение. Пневмония способствует повышению уровня циркулирующих цитокинов и хемокинов, направленных на борьбу с инфекцией путем усиления хемотаксиса и экстравазации лейкоцитов в легкие. Однако длительный или неконтролируемый воспалительный процесс с высокой концентрацией цитокинов может привести к повреждению миокарда и снижению его инотропной функции. Кроме того, циркулирующие эндотоксины и некоторые бактериальные патогены способны активировать тромбоциты, приводя к прокоагулянтному состоянию и увеличивая риск развития ССО. Взаимодействие данных патологических изменений было предложено в качестве возможных причин ССО при пневмонии, однако точный механизм остается предметом дискуссий [41]. В работе Restrepo M.I. и соавт. (2018) было показано, что в развитии ССО у пациентов с пневмонией определенное значение имеет специфическое повреждение миокарда бактериальным возбудителем [43].

Сердце – особенный орган, характерной чертой которого является наличие постоянных и временных клеточных компонентов. К постоянным клеткам относятся кардиомиоциты (всего 30% сердца), фибробласты, миофибробласты, эндотелиальные клетки и гладкомышечные клетки сосудов. Популяции временных клеток включают лимфоциты, тучные клетки и макрофаги, которые могут взаимодействовать с постоянными типами клеток, влияя на функцию миокарда [44]. Важно отметить, что у взрослых людей скорость регенерации кардиомиоцитов составляет 3% в год, что существенно ограничивает способность к заживлению. При гибели кардиомиоцитов, миофибробласты пролиферируют и синтезируют внеклеточный матрикс, богатый коллагеном, происходит замещение кардиомиоцитов фиброзной тканью. Выявление механизмов, лежащих в основе гибели клеток и повреждения сердца при бактериальной инфекции, имеет важное значение для профилактики ССО у пациентов с ХСН и пневмонией [43].

В исследовании Chen С.У. и соавт. (2023) было изучено влияние бактериальной инфекции на долгосрочный риск развития ССО у пациентов с ХСН и предшествующей госпитализацией. Пневмония была диагностирована у 43,9% больных с ХСН, инфекция мочевыводящих путей у 38,2% пациентов, инфекция кожи и мягких тканей у 9,8% больных, инфекции других локализаций – 8,2% пациентов. В течение $4,29 \pm 2,92$ лет наблюдения ССО были диагностированы у 86,19% пациентов в группе с предшествующей инфекцией и у 63,63% пациентов в группе сравнения, при этом смерть по любой причине была самым распространенным осложнением и составляла 69,44% в группе с перенесенной инфекцией и 45,85% в группе сравнения. Многофакторный регрессионный анализ показал, что в группе больных с перенесенной инфекцией в анамнезе риск ССО был выше (относительный риск (ОР) 1,760; 95% ДИ 1,714–1,807), чем у пациентов без предшествующей инфекции. По результатам однофакторного регрессионного анализа было установлено, что риск смерти по любой причине увеличивался в 1,587 раза (ДИ 1,540–1,636), инфаркта миокарда в 1,332 раза (ДИ 1,224–1,450), ишемического инсульта в 1,769 раз (ДИ 1,664–1,882), госпитализации по поводу декомпенсации ХСН в 1,993 раза (ДИ 1,922–2,066). Локализация инфекции также

имела значение: риск первичной комбинированной конечной точки был значительно выше у пациентов с пневмонией, чем с инфекцией мочевыводящих путей (ОР 1,140; 95% ДИ 1,104–1,178, $p < 0,001$) [41, 45].

В исследовании Shen L. и соавт. (2021) было показано, что у пациентов с ХСН заболеваемость пневмонией была намного выше, чем у лиц соответствующего возраста и пола в общей популяции, а возникновение пневмонии было связано со значительно более высокой частотой фатальных осложнений. При этом риск развития ССО оставался высоким на протяжении 3 месяцев после перенесенной инфекции, а риск развития летального исхода увеличивался в 4 раза [2, 12].

К предрасполагающим факторам развития пневмонии при ХСН относят: пожилой возраст, плохую гигиену полости рта, дефицит питания, снижение иммунитета, наличие тяжелых коморбидных заболеваний. В ряде клинических исследований было показано, что застойные изменения легочной паренхимы способствуют росту и активному размножению бактерий [46].

В большом проспективном обсервационном исследовании, включавшем 3921 пациента, госпитализированных с внебольничной пневмонией, у 315 (8%) больных были диагностированы более 1 остро возникшего ССО во время госпитализации. Авторы показали, что факторами риска развития острых ССО являются: возраст старше 65 лет, ХСН, тахикардия, септический шок, мультилобарная пневмония, гипоальбуминемия < 30 г/л и пневмококковая пневмония [47].

Пневмония ухудшает и долгосрочный прогноз пациентов с ХСН. Этот эффект может быть обусловлен инфекционным поражением кардиомиоцитов и проводящей системы сердца, уменьшением стабильности коронарных бляшек, повышением сосудистого тонуса и свертываемости крови [12, 48].

В работе Ну Y. и соавт. (2022) был изучен риск развития ССО у больных после перенесенной пневмонии без предшествующих сердечно-сосудистых заболеваний. За время 15-ти летнего наблюдения 247 935 пациентов с перенесенной пневмонией у 2389 (9,9%) больных была диагностирована ишемическая болезнь сердца (ИБС), у 489 (2,0%) – нарушения сердечного ритма, у

545 (2,3%) больных – ХСН, у 1764 (7,3%) – ишемический инсульт и у 348 (1,4%) – геморрагический инсульт. Наиболее высокий риск развития ССО наблюдался в первые 30 дней после выписки из стационара, вероятность возникновения ХСН, аритмии и ИБС сохранялась на протяжении 8 лет. Госпитализация по поводу пневмонии была значимым предиктором развития острого коронарного синдрома, нарушений сердечного ритма, ишемического или геморрагического инсульта в первые 90 дней. В дальнейшем относительная значимость госпитализации по поводу пневмонии в развитии ССО постепенно снижалась и была сопоставима с большинством традиционных факторов риска [41, 49].

В настоящее время обсуждается несколько механизмов развития ССО у больных с ХСН и пневмонией: местная и системная воспалительная реакция, дисфункция эндотелия, увеличение протромботической и прокоагулянтной активности плазмы крови. Патологические изменения могут сохраняться и после клинического выздоровления от пневмонии [50–53]. Поскольку ССО чаще возникают у больных с тяжелой пневмонией можно предположить, что вирулентность возбудителя и иммунный ответ вносят определенный вклад в развитие ССО [41, 51].

Совершенствование инструментальных и лабораторных методов исследования позволило установить причинно–следственную связь между данными патологическими состояниями. Развитие острого коронарного синдрома и аритмий согласуется с большинством гипотез Брэдфорда Хилла, которые используются при установлении эпидемиологических данных о причинно–следственной связи между явлениями, и подтверждены результатами фундаментальных и клинических исследований [48,50,52].

Инфаркт миокарда относят к наиболее распространенным сердечно–сосудистым осложнениям у больных с ХСН и пневмонией [54]. Инфекционный процесс стимулирует образование провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкины (ИЛ) – 1, 6, 8 и фактор некроза опухоли – α (ФНО– α), которые приводят к развитию воспалительных изменений в атеросклеротических бляшках [55]. Исследования на животных и изучение аутопсийных материалов пациентов

показали, что инфекция способствует разрыву и дестабилизации атеросклеротической бляшки, активируя металлопротеиназы и пептидазы. Протромботическое и прокоагулянтное состояние, возникающее при острой инфекции, увеличивает риск развития коронарного тромбоза в местах разрушенных бляшек.

К факторам, способствующим коронарному тромбозу, относят образование нейтрофильных внеклеточных ловушек и циркулирующих нейтрофилов, повышенную активность тромбоцитов и выработку прокоагулянтов, таких как тканевой фактор, нарушение фибринолиза и общее нарушение антикоагулянтной функции эндотелия. Пациенты с пневмонией, осложненной инфарктом миокарда, имеют значительно более высокие уровни активации тромбоцитов и синтеза тромбоксана, чем пациенты с пневмонией, не осложненной инфарктом миокарда, а состояние прокоагуляции, дисфункция тромбоцитов и эндотелия сохраняются после клинического разрешения острой инфекции [56].

Воспаление увеличивает метаболические потребности периферических тканей и органов, что приводит к увеличению частоты сердечных сокращений и сокращает время наполнения во время диастолы, тем самым нарушая коронарную перфузию. Гипоксия миокарда при пневмонии может возникнуть вследствие вентиляционно–перфузионных дефектов и последующей десатурации. Септический шок оказывает существенное неблагоприятное воздействие на коронарное кровоснабжение [51].

Исследования на животных выявили новый механизм, посредством которого инфекция может отрицательно влиять на функцию миокарда. Экспериментально индуцированная пневмококковая бактериемия вызывает поражение сердца, характеризующееся вакуолизацией и гибелью миоцитов без накопления воспалительных клеток; эти изменения ассоциированы с повышенным уровнем тропонина, аритмиями и электрокардиографическими изменениями. Подобные нарушения наблюдались при аутопсии у двух из девяти пациентов, умерших от пневмококковой пневмонии [57]. Тяжелая инфекция способствовала развитию

цитокинового шторма и возникновению острой сердечной недостаточности даже у молодых пациентов без факторов риска развития ССО [58].

Возникновение или ухудшение течения аритмий у пациентов с ХСН и пневмонией может возникать из-за повреждения миокарда вследствие ишемических и неишемических причин. Нарушения сердечного ритма развиваются при повышении возбудимости кардиомиоцитов вследствие компенсаторной симпатической гиперактивности. Проаритмогенным эффектом также могут обладать макролиды и фторхинолоны [48].

Фибрилляция предсердий (ФП) является наиболее распространенным нарушением сердечного ритма у пациентов с ХСН, перенесших тяжелое инфекционное заболевание [59]. Ранее было принято ошибочно считать, что впервые выявленная ФП при определенных патологических состояниях является преходящей, самокупирующейся и даже «доброкачественной» формой аритмии, не имеющей клинических последствий. Но результаты проведенных исследований доказывают, что существует риск рецидива ФП и связанных с ним неблагоприятных исходов [60].

В ряде случаев ФП является не только следствием тяжелой инфекции при ХСН, но может быть и независимой причиной нозокомиальной пневмонии. В исследовании Zhu J. и соавт. (2015) было показано, что ФП увеличивает риск развития госпитальной пневмонии в 7 раз. Авторы сделали вывод, что возникновение гемодинамических нарушений, снижение сердечного выброса и развитие застойных изменений в легких может способствовать развитию пневмонии [61].

Отдельной проблемой является пневмония, вызванная мультирезистентными возбудителями. Согласно эпидемиологическим исследованиям ежегодно от бактериальных инфекций, устойчивых к антибиотикам, умирают около 700 000 человек. В исследовании Dominedò C. и соавт. (2021) было показано, что наиболее значимыми и распространенными предикторами присоединения нозокомиальной пневмонии, вызванной мультирезистентными возбудителями, в общей популяции были нахождение в стационаре с высоким уровнем мультирезистентных патогенов

(n = 421; 83%) и предшествующее применение антибиотиков (n = 399; 79%) (чувствительность 92% и 85%; специфичность 85% и 82% соответственно). Менее распространенным предиктором было положительное предшествующее микробиологическое исследование на наличие мультирезистентных респираторных патогенов (n = 17; 3%), (специфичность и чувствительность 100%) [62].

Будучи одной из основных патогенных бактерий при внутрибольничной пневмонии, *P. aeruginosa* обычно наблюдается у пациентов со структурными изменениями в легких, иммунодефицитом или другими факторами риска. Процент пациентов в Европе с инфекцией, вызванной *P. aeruginosa* с множественной лекарственной устойчивостью, составил 12,9%. Внутрибольничная инфекция, вызванная *P. aeruginosa* становится устойчива к ранее эффективным антибиотикам, что делает ее одной из основных проблем здравоохранения [63].

P. aeruginosa относится к оппортунистическим внеклеточным грамотрицательным бактериям, являясь ведущей причиной нозокомиальной пневмонии, дыхательной недостаточности и сепсиса у пациентов с ослабленным иммунитетом, особенно у пациентов с муковисцидозом [64]. Бактерия имеет относительно большой геном по сравнению с другими бактериями и обладает большой генетической универсальностью, что позволяет ей расти в различных средах, продуцировать многообразные факторы вирулентности и проявлять устойчивость к большинству доступных в настоящее время антибиотиков [65]. В состав структуры *P. aeruginosa* и ее особенностями являются липополисахарид, чувство кворума, двухкомпонентные системы, блеббинг-везикулы, локусы CRISPR, экзополисахариды и адгезины для формирования биопленки, 6 типов систем секреции [66]. *P. aeruginosa* входит в группу наиболее вирулентных и антибиотикорезистентных возбудителей, обозначенных аббревиатурой ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter species*). В 2017 году *P. aeruginosa* была признана одной из наиболее опасных для человека

бактерий и внесена в список приоритетных патогенов для исследования и разработки новых антибиотиков Всемирной организации здравоохранения [67].

Хотя *P. aeruginosa* редко вызывает пневмонию у здоровых людей, присоединение данной бактерии требует повышенного внимания в связи с высокой смертностью и возможностью развития полиорганной недостаточности. Например, клинический случай, опубликованный в 2019 году китайскими исследователями, представляет ранее здорового пациента 25-ти лет с внебольничной пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*, которая в течение 2-х дней осложнилась септическим шоком. У пациента были диагностированы вторичная гематогенная инфекция центральной нервной системы и полиорганная недостаточность, с поражением сердечно-сосудистой, центральной нервной и пищеварительной систем. В процессе лечения бактерия быстро развила устойчивость к карбапенемам, и режим антибиотикотерапии был заменен на антибиотики с антисинегнойной активностью (ципрофлоксацин+цефтазидим). Спустя месяц на фоне постоянной поддерживающей и антибиотикотерапии наступило значительное улучшение, и пациент был выписан из больницы [68]. Данный клинический случай ярко демонстрирует тяжесть течения *P. aeruginosa*-ассоциированной пневмонии и риск развития мультисистемного поражения в связи с генерализацией инфекции.

До настоящего времени остается предметом дискуссий вопрос о патологических процессах, лежащих в основе развития ССО у больных ХСН и пневмонией. Имеется небольшое число исследований, посвященных изучению молекулярных и клеточных механизмов данных осложнений.

1.3. Роль *Pseudomonas aeruginosa* в развитии ферроптотического повреждения клеток: молекулярные механизмы и новые перспективы лечения

В последние десятилетия активно обсуждается роль различных форм гибели клеток миокарда и эндотелиальных клеток в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний: инфаркта миокарда, сердечной недостаточности, миокардита и

врожденных пороков сердца [12]. Ферроптоз — это новая форма гибели клеток, патофизиологически и морфологически отличающаяся от некроза и апоптоза, которая была впервые описана в 2012 году. Ферроптоз характеризуется избытком железозависимых АФК и перекисей липидов, что индуцирует окислительный стресс и приводит к гибели клетки. Различные метаболические пути с участием железа, липидов и аминокислот контролируют чувствительность клеток к ферроптозу. В последние несколько лет изучение ферроптоза активно развивалось и многочисленные научные исследования позволили приблизиться к пониманию процессов, составляющих ферроптоз, способов клеточной защиты, а также роли ферроптоза при различных заболеваниях [69].

Первой предпосылкой к открытию ферроптоза стало исследование Eagle H. 1950 года о гибели клеток с участием цистина, аминокислоты, уменьшение количества которой препятствует росту клеток и приводит к их гибели [70]. Но только спустя 50 лет, в 2003 году, Dolma S. и соавт. открыли молекулу эрастин, вызывающую гибель клеток, не похожую на апоптоз [71].

В 2008 году Yan W.S. и Stockwell B.R. продемонстрировали, что ингибирование глутатионпероксидазы 4 (ГП 4) молекулой RSL3 индуцирует неапоптотическую гибель онкогенных клеток. Также было показано, что данную гибель клеток можно предотвратить путем генетической блокировки поглощения клетками железа или хелированием железа [72]. В 2012 году Dixon S.J. и соавт. обнаружили, что эрастин вызывает железозависимое образование АФК, что приводит к новой форме неапоптотической гибели клеток, которую назвали ферроптозом [73].

Механизм ферроптоза заключается в накоплении АФК, продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), как результат реакции Фентона с участием двухвалентного железа, которые затем индуцируют ферроптоз. Активация ферроптоза происходит при ингибировании глутатионпероксидазы 4 (ГП 4), внутриклеточного фермента, предотвращающего перекисное окисление фосфолипидов. Катализаторами ПОЛ также выступают 15-липоксигеназа, диоксигеназы полиненасыщенных жирных кислот, в условиях, когда

гидроперокси-фосфолипиды не могут быть инактивированы ГП 4. Помимо внутриклеточной индукции ферроптоза посредством ингибирования ГП 4, существует внеклеточный механизм, связанный с ингибированием системы Xc⁻ (System Xc⁻), цистин/глутаматного транспортера, кодируемого геном SLC7A11, что ведет к уменьшению количества цистина в клетке и образования ГП 4. Морфологически ферроптоз характеризуется уменьшением объема митохондрий с конденсацией и уплотнением внутренних мембран, уменьшением и даже исчезновением митохондриальных крист, а также разрывами внешней митохондриальной мембраны, неповрежденной клеточной мембраной, интактным ядром и хроматином. На данный момент доказана роль ферроптоза в развитии различных патологических состояний, включая сердечно-сосудистые, бронхолегочные заболевания и бактериальные инфекции [12].

В контексте респираторной инфекции, как организм хозяина, так и бактерии, выработали множество механизмов, регулирующих процессы клеточной гибели. С одной стороны, организм хозяина стремится быстро инициировать воспалительную реакцию в месте инфекции для элиминации патогенов, подавить воспаление и стабилизировать тканевой гомеостаз. С другой стороны, бактерии выработали механизмы управления гибелью клеток, чтобы повысить собственную выживаемость и распространение. Разнообразие способов, с помощью которых регулируется клеточная гибель, подтверждает важность ее участия в развитии инфекционного процесса. В настоящее время исследованы механизмы индукции ферроптоза, которые использует *P. aeruginosa* при персистенции в организме хозяина [69].

В настоящее время у *P. aeruginosa* идентифицировано 6 типов систем секреции. В зависимости от путей секреции транспортных белков системы делятся на два основных класса: одноступенчатые системы секреции и двухступенчатые системы секреции. Одноступенчатая система секреции непосредственно секретирует белки из бактериального цитозоля в цитоплазму клетки, тогда как двухступенчатая система секреции требует кратковременного пребывания в

периплазматическом пространстве секретируемых белков, а затем высвобождает белки в межклеточное пространство [66].

Наиболее хорошо изучена система секреции III типа. Она была открыта в 1996 году и играет ключевую роль в вирулентности *P. aeruginosa*, например, принимает участие в чувстве кворума. Тридцать шесть генов, кодируемых пятью оперонами, сгруппированными в хромосоме *P. aeruginosa*, участвуют в биогенезе и регуляции системы секреции III типа. Шесть других генов кодируют эффекторные белки и их шапероны. Структурно система секреции III типа подобна молекулярному шприцу и ее можно разделить на пять частей: белки, составляющие игольчатый комплекс, транспортирующий субстраты из бактериального цитозоля во внеклеточную среду; белки, транспортирующие секретируемые белки в клетки хозяина; белки, регулирующие процесс секреции; белки–шапероны, облегчающие секрецию, и эффекторные белки, которые инъецируются в клетки хозяина. Система секреции III типа секретирует факторы вирулентности (ExoS, ExoT, ExoY и ExoU) в эукариотические клетки, чтобы нарушить внутриклеточную передачу сигналов и вызвать гибель клеток. Наличие системы секреции III типа характерно для грамотрицательных бактерий, которая является важным механизмом секреции факторов инвазии, способствующих уклонению бактерий от иммунного ответа хозяина для колонизации, репликации и распространения [63,66].

Доказана роль системы секреции III типа в развитии пневмонии. Интактный бронхиальный эпителий умеренно устойчив к прикреплению и инвазии *P. aeruginosa*, что может объяснить условно–патогенную природу бактерии. Поврежденный эпителий более восприимчив к колонизации *P. aeruginosa* и белкам системы секреции III типа. Неспособность элиминировать *P. aeruginosa* позволяет секретируемым эффекторным белкам и другим токсинам повреждать легочную ткань, что приводит к появлению симптомов пневмонии. На восприимчивость легких отрицательно влияют снижение синтеза легочного сурфактанта, фосфатидилхолина и наполнение альвеол богатой белком жидкости после разрушения ExoS, ExoT, ExoY и ExoU эпителиальных и эндотелиальных барьеров в легких. Утрата целостности данных барьеров приводит к появлению бактерий и

провоспалительных цитокинов в системном кровотоке и септическому шоку. Конечным результатом является повышенная смертность, связанная с инфицированием штаммами системы секреции III типа [63].

P. aeruginosa использует химические сигналы, обеспечивающие связь внутри колонии микроорганизмов. Данная система получила название «чувство кворума», именно она позволяет бактериям увеличивать популяцию и в ответ на изменение плотности клеток бронхиального эпителия координировать поведение. Система «чувство кворума» *P. aeruginosa* состоит из двух полных цепей, которые включают сигналы ацил–гомосерин–лактона, и третьей системы, использующей сигналы хинолонов. Вместе эти три цепи регулируют экспрессию сотен генов, многие из которых кодируют факторы вирулентности. Благодаря функционированию данной системы происходит активация множества факторов вирулентности *P. aeruginosa*, таких как внеклеточные протеазы, хелаторы железа, экспрессия эффлюксного насоса, развитие биопленок, роевая подвижность и реакция на иммунитет хозяина. За последние два десятилетия данная система широко изучалась как потенциальная мишень для «противовирулентных агентов», которые можно использовать в качестве нецитотоксических веществ и альтернативы традиционным антибиотикам [74,75].

Везикулы внешней бактериальной мембраны (блеббинг–везикулы) — это бактериальные компоненты, которые могут спонтанно высвобождаться в окружающую среду во время роста грамотрицательными бактериями. Это новый механизм секреции, доставляющий различные бактериальные белки и липиды в клетки–хозяина без прямого контакта с ними. *P. aeruginosa* секретирует блеббинг–везикулы для доставки факторов вирулентности и мРНК в эпителиальные клетки легких путем диффузии через слизистую оболочку. Некоторые исследования показывают, что блеббинг–везикулы увеличивают гидрофобность поверхности клеток, что приводит к усилению способности образовывать биопленки. Блеббинг–везикулы контролируются системой «чувство кворума», что позволяет бактериям увеличивать колонию и ускользать от воздействия иммунной системы человека [66].

Другой механизм защиты *P. aeruginosa* связан с образованием биопленок. Биопленка — это самая распространенная форма существования бактерий. Помимо медицинских учреждений, биопленки формируются в промышленных трубопроводах, очистных сооружениях, градирнях, системах распределения воды, а также на корпусах морских судов. Биопленка представляет собой бактериальное сообщество, состоящее из клеток, прикрепленных к поверхности или друг к другу и заключенных в самогенерируемый матрикс из внеклеточного ДНК, белков и липидов. Клетки внутри биопленок растут с другой скоростью, чем свободноживущие организмы и у них иначе функционируют целые кластеры генов. Таким образом, биопленки — не просто скопления бактерий, а другая форма их существования.

Клетки в биопленке гораздо более устойчивы к высоким температурам, дефициту питания, действию иммунной системы и к антибиотикам, чем планктонные формы. Чтобы элиминировать биопленку, нужно увеличить концентрацию антибактериального препарата в 10–1000 раз. Образование биопленки также является причиной хронизации инфекции в 80% случаев, что увеличивает экономические затраты на оказание медицинской помощи, повышает заболеваемость и смертность пациентов [76].

Переход *P. aeruginosa* от планктонного роста к образованию биопленки ассоциирован с экспрессией гена липоксигеназы *pLoxA*, которая затем секретируется в межклеточное пространство. Несмотря на отсутствие собственной арахидоновой кислоты, *P. aeruginosa* использует липоксигеназу *pLoxA*, которая окисляет арахидоновую кислоту – фосфатидилэтаноламин (AA-PE) хозяина до 15-гидроперокси-AA-PE и индуцирует ферроптоз в клетках бронхиального эпителия человека. Данная гибель клеток могла быть предотвращена ингибитором ферроптоза ферростатином-1. При исследовании образцов от больных муковисцидозом, инфицированных *P. aeruginosa*, были обнаружены окисленные фосфатидилэтаноламины. Данные окисленные фосфатидилэтаноламины были обнаружены при анализе клеток бронхиального эпителия, к которым был добавлен супернатант *P. aeruginosa*, и определены как прогностические

проферроптотические маркеры. Способность индуцировать ферроптоз в клетках бронхиального эпителия человека была продемонстрирована на супернатанте мутанта *P. aeruginosa*, который называется $\Delta wspF$ и характеризуется гиперпродукцией биопленки. При этом планктонные формы не обладали способностью индуцировать ферроптоз [5].

При дальнейшем изучении возможных механизмов активации ферроптоза, индуцированного *P. aeruginosa*, было обнаружено, что бактерия, помимо экспрессии липоксигеназы PLoxA, вызывает деградацию ГП 4, активируя шапероновую аутофагию [5,77].

Шапероновая аутофагия относится к избирательному типу аутофагии, при котором происходит направленный транспорт частично денатурировавших белков из цитоплазмы сквозь мембрану лизосомы, где они подвергаются деградации [78]. Поскольку ГП 4 предотвращает образования липидных гидропероксидов, его деградация является обязательным событием при ферроптотической гибели клеток. Подобно классическим индукторам ферроптоза, таким как эрастин или RSL3, супернатант *P. aeruginosa* индуцирует деградацию ГП 4, что приводит к усилению образования гидроперекисей липидов и ферроптозу. В последнее время активно обсуждаются различные механизмы развития дефицита ГП 4, раскрытие этих механизмов даст нам дополнительные инструменты для контроля, изучения и понимания патогенеза ферроптотической гибели клеток [77].

Несмотря на главную роль ГП 4 как антиферроптотического агента, есть другие ингибиторы ферроптоза. В 2020 году Kapralov A.A. и соавт. опубликовали исследование, в котором описали новый ингибитор ферроптоза оксид азота (NO) на модели поляризации макрофагов в стадии M1 и M2. Макрофаги после активации в провоспалительное состояние M1 начинают экспрессировать индуцибельную синтазу оксида азота (iNOS), что отличает их от макрофагов в противовоспалительном состоянии M2. Ученые показали, что плеiotропный регулятор многих биологических процессов NO, может взаимодействовать с промежуточными продуктами липидов, генерируемыми 15-липоксигеназой, предотвращая ферроптоз и делая макрофаги M1 устойчивыми к индукторам

ферроптоза. В то время как макрофаги M2, не экспрессирующие iNOS, оказались высоко чувствительными к индукторам ферроптоза. Гибель M2 от ферроптоза предотвращали доноры NO [79].

Оксид азота предотвращает ферроптотическую гибель, индуцированную не только химическими соединениями, такими как RSL3 и эрастин, но и бактерией *P. aeruginosa*. В исследовании Dar Н.Н. и соавт. (2021) было показано, что NO ингибировал ферроптотическую гибель клеток бронхиального эпителия, вызванную супернатантом *P. aeruginosa* при недостаточности ГП 4. NO может диффундировать сквозь различные среды и оказывать протективное антиферроптотическое действие, как в месте синтеза, так и удаленно. Например, при совместном культивировании макрофагов и клеток бронхиального эпителия, NO, экспрессируемый макрофагами, предотвращал ферроптотическую гибель эпителиальных клеток [77].

Оксид азота широко используется в качестве сигнальной молекулы в биологических системах и вызывает рассеивание биопленки *P. aeruginosa* [78,79]. Для изучения эффективности оксида азота в лечении пациентов с бактериальными инфекциями было проведено исследование Łusiak–Szelachowska М. и соавт. (2020), в котором оценивалось действие оксида азота на биопленки различных микроорганизмов. Рассеивание при воздействии оксида азота наблюдалось во всех биопленках, образованных грамположительными и грамотрицательными бактериями. Среднее уменьшение общей поверхности биопленки составило 63%. Биопленки, подвергшиеся воздействию низких доз NO, оказались более восприимчивы к противомикробной обработке, чем необработанные биопленки [82].

В последние годы было проведено множество исследований, направленных на улучшение способов доставки NO, снижение цитотоксичности и выраженности побочных эффектов. Например, были разработаны полимерные материалы, выделяющие NO, ингаляционные формы NO, доноры NO. Так как оксид азота токсичен в высоких дозах, сейчас обсуждается совместное применение низких доз оксида азота в комбинации с антибактериальными препаратами [83].

Помимо оксида азота создаются другие антибактериальные препараты с новым механизмом действия, например ингибирование чувства кворума, иммунотерапия, хелаторы железа, вакцины, фитотерапия и фаготерапия. Также разрабатываются препараты для элиминации биопленки. Новые подходы к лечению инфекции и элиминации биопленки представлены в таблицах 1 и 2 [65].

Таблица 1 – Новые подходы к лечению инфекции, вызванной *P. aeruginosa*

Препарат	Механизм действия/мишень	Примеры веществ
Ингибиторы чувства кворума	Деградация сигнальных молекул и предотвращение их накопления, препятствие передаче сигналов	Салициловая кислота, ромашка, чеснок, фураноны
Иммунотерапия	Антитела к белку PcrV, флагеллину, липополисахариду	KB001–А (ингибирование системы секреции III типа), Панобакумаб (антитело к липополисахариду), иммуноглобулин Y (антитело к флагеллину)
Хелаторы железа	Хелатирование железа	Галлий
Вакцина	Полисахарид, белок PcrV	Поливалентная вакцина
Фитотерапия	Производство экзополисахаридов, феназинпиоцианина, рамнолипидов, эластазы и щелочной протеазы	Формула традиционной китайской медицины Tanreqing, <i>Herba patriniae</i>
Фаготерапия	Лизис клеточной мембраны и стенки	Генетически модифицированные синтетические фаги

Таблица 2 – Новые подходы к элиминации биопленки *P. aeruginosa*

Препарат	Механизм действия/мишень	Примеры веществ
Антимикробные пептиды	Уничтожение бактериальных клеток как мембранолитическим, так и немембранолитическим механизмами; взаимодействие с внутриклеточными мишенями (ДНК, РНК и белки).	LL–37, Пептид 1037

Продолжение Таблицы 2

Ингибиторы чувства кворума	Деградация сигнальных молекул и предотвращение их накопления, препятствие передаче сигналов; ослабление факторов вирулентности.	Бромированные фураноны, итаконимиды
Хелаторы железа	Хелатирование железа	Дефероксамин
Ферменты	Экзополисахарид	Альгинатлиазы, дезоксирибонуклеазы
Иммунотерапия (моноклональные антитела)	Бактериальные ДНК–связывающие белки	Моноклональные антитела
Газообразные агенты	Изменения внутриклеточного уровня циклического	Оксид азота
	дигуанилата (сигнальной молекулы для перехода в биопленку)	
Фотодинамическая терапия	Фотоинактивация	Тетракационный порфирин
Фототермическая терапия	Генерирует локальное тепло, приводящее к необратимому повреждению бактериальных клеток	Золотые наночастицы
Фитотерапия	Ингибирование экспрессии генов, ассоциированных с биопленкой (rhlR, rhlA и lasB)	Экстракт <i>Herba patriniae</i>
Фаготерапия	Лизис клеточной мембраны и стенки	Сконструированный бактериофаг T7, кодирующий фермент лактоназу

Таким образом, изучение механизмов развития ферроптоза и выявление факторов защиты клеток от ферроптотической гибели имеет большое практическое значение, которое поможет созданию нового направления в лечении пациентов с пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*.

1.4. Значение ферроптоза в развитии сердечно–сосудистых осложнений

Несмотря на совершенствование методов инструментальной диагностики и лечения ХСН остается распространенной глобальной проблемой здравоохранения с высоким риском летального исхода. Комплексный механизм развития сердечно–сосудистых заболеваний сложен и требует мультидисциплинарного подхода. Исследования последних десятилетий показали, что различные формы регулируемой и нерегулируемой гибели клеток миокарда и сосудов вовлечены в патогенез развития сердечно–сосудистых заболеваний. Было установлено, что ферроптотическая гибель кардиомиоцитов играет важную патофизиологическую роль в развитии и прогрессировании ХСН и различных патологических состояний, например, при инфаркте миокарда и кардиомиопатии [84].

Повышенный уровень активных форм кислорода, белков и липидов, приводят к увеличению количества продуктов перекисного окисления липидов, нарушению эндогенных антиоксидантных механизмов и снижению уровня глутатиона, являющегося предшественником ГП 4. Системное воспаление влияет на функцию коронарных артерий и микроциркуляторного русла, нарушает структуру кардиомиоцитов и негативно влияет на сократительную способность миокарда. Диастолическая функция левого желудочка является более чувствительным ранним маркером перегрузки миокарда железом, чем систолическая функция. В ряде клинических исследований было показано, что как дефицит, так и перегрузка железом способствуют развитию сердечной недостаточности, нарушая гомеостаз железа в кардиомиоцитах, уязвимых к перегрузке свободным железом [85,86].

Железо является важным микроэлементом, необходимым для правильного функционирования всех типов клеток млекопитающих. Железо служит ко–фактором в геме и в белках, содержащих железосерный кластер, необходимый для транспорта кислорода и окислительного фосфорилирования. В фундаментальных исследованиях было показано, что при отсутствии у мышей в клетках миокарда рецептора трансферрина Tfr1, содержание железа в кардиомиоцитах снижается и

они умирают в течение 2 недель из-за тяжелой кардиомиопатии. Предотвратить развитие данного состояния можно агрессивной терапией препаратами железа, однако перегрузка железом также влечет негативные последствия для кардиомиоцитов. В эксперименте на мышцах Lakhal–Littleton S. и соавт. (2015) показали, что отсутствие экспортера железа в кардиомиоцитах приводило к нарушениям инотропной функции миокарда, что подтверждает важность поддержания гомеостаза железа [87].

Ферроптоз характеризуется избытком железозависимых активных форм кислорода и перекисей липидов. Железо является ключевым компонентом гемоглобина, миоглобина, различных оксидаз и белков дыхательной цепи митохондрий, участвующих в клеточном метаболизме и необходимо для многих биохимических и метаболических процессов. В условиях перегрузки железом содержание железа в плазме превышает трансферринсвязывающую способность сыворотки, и в кровотоке появляется несвязанное с трансферрином железо. Чрезмерное поглощение лабильного железа приводит к выработке высокоактивных форм кислорода, что вызывает перекисное окисление мембранных липидов, окислительное повреждение внутриклеточных белков и в конечном итоге приводит к гибели клеток [85].

В исследовании Fang X. и соавт. (2020) было показано, что сверхэкспрессия SLC7A11 и применение ферростатина-1 ингибирует ферроптоз кардиомиоцитов. В ряде работ было показано, что специфические ингибиторы ферроптоза уменьшают повреждение органов. Другим важным компонентом антиоксидантной системы организма является ферритин, основной белок для хранения железа. Во время окислительного стресса экспрессия ферритина увеличивается как на уровне мРНК, так и на уровне белка, тем самым снижая выработку активных форм кислорода и предотвращая ферроптоз. Предыдущие исследования также показали, что ферритинофагия — форма аутофагии — разрушает ферритин, тем самым повышая уровень железа и приводя к окислительному повреждению посредством реакции Фентона [88].

В работе Fratta Pasini A.M. и соавт. (2023) было показано, что ферроптотическую гибель кардиомиоцитов можно наблюдать при остром инфаркте миокарда [6]. Недавнее исследование с использованием протеомного анализа выявило снижение уровня ГП 4 и активацию ферроптоза у мышей с инфарктом миокарда; делеция ГП 4 приводила к накоплению перекисей липидов и способствовала ферроптотической гибели кардиомиоцитов, исходных клеток сердечной мышечной ткани, которые после ряда митотических циклов дифференцируются в кардиомиоциты. Активность фермента гемоксигеназы-1 (НМОХ1), фермента катализирующего первый этап катаболизма гема с образованием свободного железа, усиливается при острой ишемии миокарда, что приводит к избытку железа и увеличивает ферроптоз кардиомиоцитов.

В экспериментальных исследованиях также изучались возможные эффекты воздействия на избыток железа при инфаркте миокарда. В исследовании Vaba Y. и соавт. (2018) было продемонстрировано, что ингибитор ферроптоза ферростатин-1 снижал железозависимую гибель кардиомиоцитов, за счет уменьшения количества активных форм кислорода в клетках [8].

Результаты экспериментальных исследований указывают на возможную связь между гипертрофией миокарда и ферроптозом. При создании экспериментальной модели ХСН путем перевязывания аорты и последующем увеличении градиента давления повышалась экспрессия НАДФН-оксидазы, фермента, участвующего в образовании активных форм кислорода, и снижалась активность ГП 4, что указывает на роль окислительного стресса и ферроптоза в процессе перехода от гипертрофической кардиомиопатии к сердечной недостаточности. При этом, ингибирование НАДФН-оксидазы значительно уменьшало ремоделирование левого желудочка и снижало гибель кардиомиоцитов вследствие ферроптоза [89]. Фитоэстроген с антиоксидантными свойствами пуэрарин снижает экспрессию НАДФН-оксидазы и увеличивает экспрессию ГП 4 при создании модели сердечной недостаточности у крыс [90]. При генетической делеции переносчика цистина (предшественника ГП 4) SLC7A11 у мышей прогрессируют гипертрофия и фиброз, индуцированные ангиотензином II [91].

Значение ферроптоза в развитии кардиального повреждения изучено на примере противоопухолевых препаратов, таких как доксорубин (DOX). Fang X. и соавт. (2019) показали, что гемоксигеназа-1 активируется при DOX-индуцированном повреждении сердца, катализируя деградацию гема и увеличивая количество лабильного железа, что приводит к ферроптозу и к сердечной недостаточности. Ингибирование ферроптоза или гемоксигеназы-1 значительно снижает доксорубин-индуцированное повреждение сердца, аналогично защитному эффекту хелатора железа дексразоксану. Ингибирование ферроптоза значительно уменьшало повреждение сердца при реперфузионном повреждении, что указывает на потенциальную мишень в лечении ишемического повреждения кардиомиоцитов. Доксорубин также вызывает накопление митохондриального железа в кардиомиоцитах. Роль ферроптоза в повреждении кардиомиоцитов подтверждает и тот факт, что диета с низким содержанием железа уменьшает доксорубин-индуцированную кардиотоксичность и увеличивает процент выживаемости мышей [7].

Другим сердечно-сосудистым заболеванием, при котором была изучена роль ферроптоза, является септическая кардиомиопатия, патогенез которой до конца не ясен. Исследования показали, что при сепсисе липополисахарид (ЛПС, эндотоксин и основной компонент внешней мембраны грамотрицательных бактерий) или стимулятор генов интерферона (STING, регулятор врожденного иммунитета и ПОЛ) приводят к кардиомиопатии посредством индукции апоптоза, аутофагии, пироптоза или некроптоза [92,93]. Подавление вышеперечисленных типов гибели клеток, индуцированных ЛПС или STING, лишь частично уменьшало повреждение сердца при сепсисе, что говорит о наличии другого механизма повреждения. Увеличение циклооксигеназы-2, доказанного маркера ферроптоза, в кардиомиоцитах мышей при сепсисе [94] и схожесть митохондриальных изменений, вызванных ЛПС, с митохондриальными особенностями ферроптоза миокарда, позволяют предположить, что активность ферроптоза может коррелировать с развитием септической кардиомиопатии, вызванной ЛПС или STING [6].

Li N. и соавт. (2020) продемонстрировали, что ЛПС способен стимулировать экспрессию NCOA4, активатора ферритинофагии, у мышей, что приводит к деградации ферритина, повышает уровень лабильного железа и способствует ферроптозу. Избыток внутриклеточного железа увеличивает экспрессию митохондриального мембранного белка сидерофексина, который переносит ионы железа в митохондрии, приводя к генерации активных форм кислорода и ферроптозу [95]. Роль ферроптоза в развитии септической кардиомиопатии подтверждает исследование Wang C. и соавт. (2020), в котором было показано снижение уровня ГП 4 и увеличение концентрации железа и тропонина I у мышей с септической кардиомиопатией, вызванной перевязкой и пункцией слепой кишки [96].

В последние годы появились работы, свидетельствующие, что ферроптоз способствует развитию атеросклероза. Ферростатин-1 останавливает процесс формирования атеросклеротических бляшек за счет ингибирования перекисного окисления липидов и уменьшения эндотелиальной дисфункции в клетках аорты. Процесс ферроптоза тесно связан с медиаторами воспаления и окислительным стрессом. Различные молекулярные фрагменты, ассоциированные с повреждениями (DAMPs), и провоспалительные медиаторы, такие как интерферон- γ , ИЛ-33 и ИЛ-1 α , могут индуцировать воспалительный процесс и приводить к атеросклерозу. Перекисное окисление липидов увеличивает образование свободных радикалов в эндотелии сосудов, снижает количество оксида азота, активирует воспалительный процесс путем поляризации макрофагов, образования тучных клеток, приводя к атеросклеротическому повреждению. Известна роль железа в формировании атеросклеротических бляшек путем регулирования перекисного окисления липидов. Избыток железа усиливает окислительный стресс и вызывает гиперэкспрессию некоторых воспалительных факторов, участвующих в развитии атеросклероза, таких как молекула клеточной адгезии-1, васкулярная молекула клеточной адгезии-1 и моноцитарный хемоаттрактантный белок-1. Проведенные исследования доказывают значение ферроптоза в развитии атеросклероза [69].

В модели легочной гипертензии у крыс ферростатин-1 уменьшал повреждение эндотелиальных клеток легочной артерии и ремоделирование легочных сосудов. В недавнем исследовании было обнаружено, что 7 генов ферроптоза (включая BCL2, GCLM, MSMO1, SLC7A11, SRXN1, TSPAN5 и TXNRD1) по-разному экспрессируются в легких пациентов с идиопатической легочной гипертензией. Аналогично, исследование сравнения экспрессии 8-ми генов, связанных с ферроптозом (IDH1, DPP4, HIF-1 α , ACSL4, SLC7A11, PLIN2, EIF2S1 и TXNRD1), показало увеличение экспрессии данных генов в группе пациентов с легочной артериальной гипертензией по сравнению с контрольной группой [97].

Таким образом, в ряде экспериментальных работ было показано значение ферроптоза в развитии тяжелых повреждений сердечно-сосудистой системы. Однако клинических исследований, посвященных изучению ферроптоза в развитии ССО у больных с ХСН, в настоящее время нет. Изучение роли ферроптоза позволит не только раскрыть новые звенья патогенеза urgentных осложнений при ХСН, но и определить перспективы разработки новых способов профилактики и лечения.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Клиническая характеристика пациентов

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 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) [98].

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 *S. aureus* (Рисунок 1).

Критерием включения пациентов в исследование было наличие ХСН с промежуточной (СНпФВ) или сниженной ФВ ЛЖ и подтвержденного диагноза пневмония 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 [15].

Критерием невключения в исследование было наличие РНК SARS-CoV-2 в образцах мазков из носоглотки и ротоглотки методом ПЦР, признаков ОРВИ, хроническая обструктивная болезнь легких, тяжелая патология печени, терминальная стадия хронической почечной недостаточности, анемия тяжелой степени, онкологические заболевания, беременность.

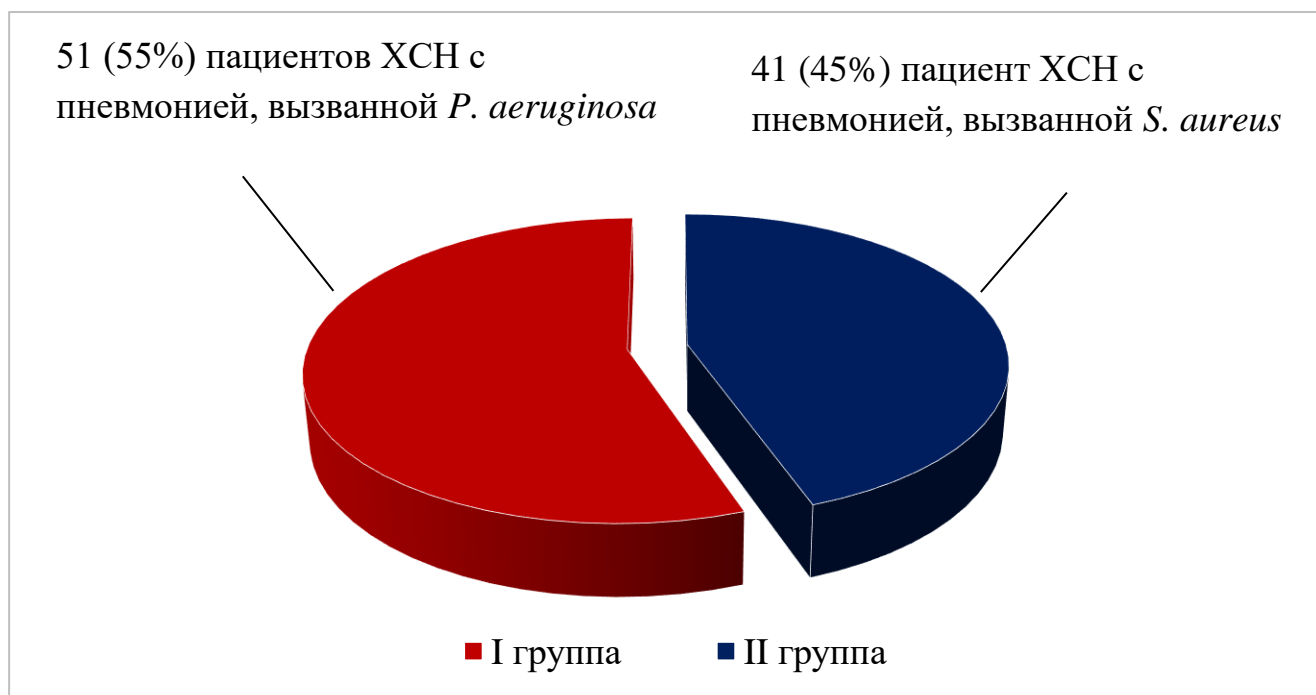


Рисунок 1 – Распределение пациентов по группам

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовского Университета), протокол № 23–22 от 17.11.2022.

Исследуемые группы были сопоставимы по полу, возрасту, распространенности артериальной гипертензии (АГ), ИБС, сахарного диабета, ожирения и хронической болезни почек (ХБП) (Таблица 3).

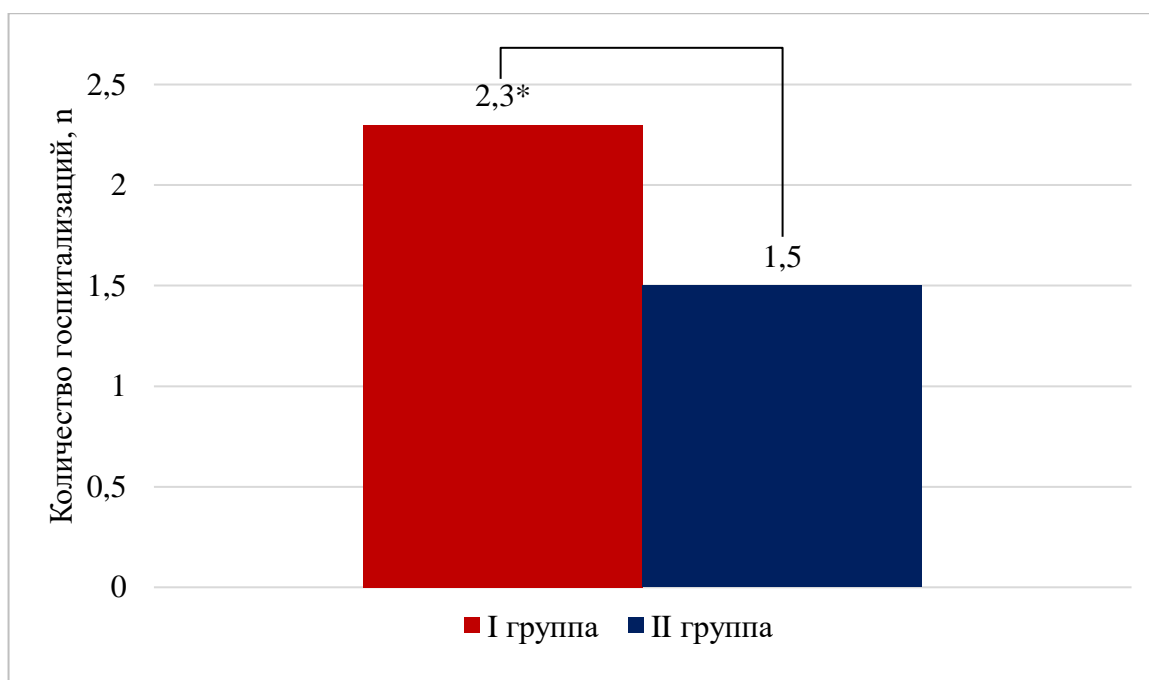
Таблица 3 – Клиническая характеристика больных

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

Продолжение Таблицы 3

Сахарный диабет, n (%)	6 (12%)	10 (24%)	0,114
Ожирение, n (%)	31 (60%)	30 (73%)	0,194
ХБП, 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

Большинство пациентов, включенных в исследование, имели в анамнезе несколько предшествующих госпитализаций. Частота госпитализаций по поводу ХСН за последний год составила 2,3 и 1,5 соответственно ($p < 0,05$), что иллюстрирует рисунок 2.



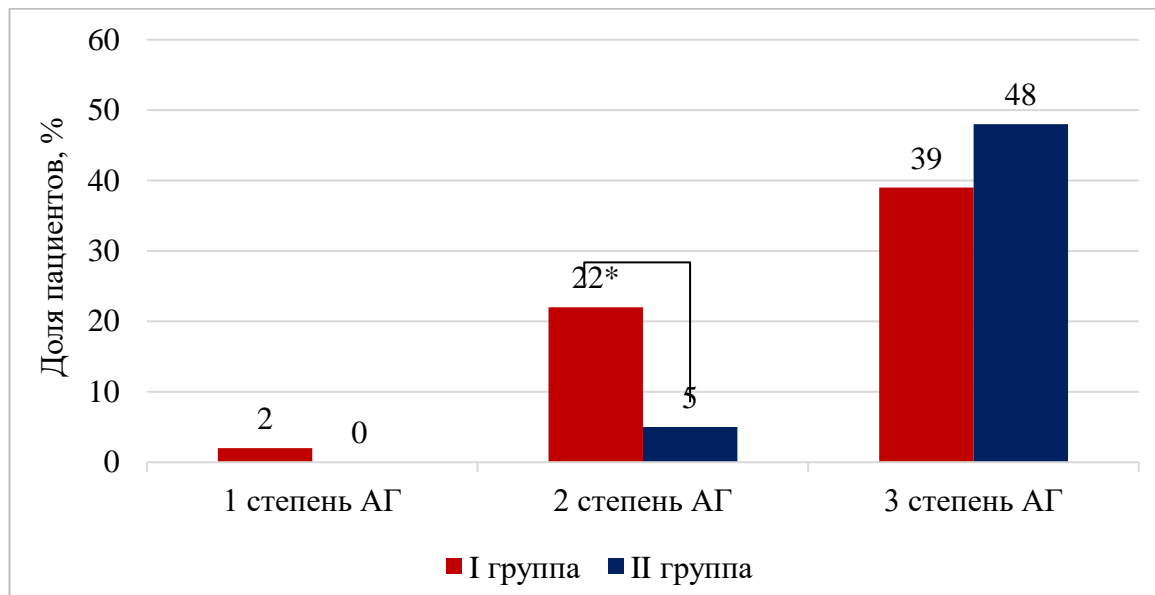
Примечание: * – $p < 0,05$ при сравнении между I и II группами

Рисунок 2 – Среднее число госпитализаций в год на 1 больного

В отделение реанимации и интенсивной терапии были изначально госпитализированы 12 (24%) больных основной группы и 2 (5%) пациентов группы сравнения ($p < 0,05$).

Пациенты имели различную степень повышения артериального давления. АГ 1 степени была диагностирована у 1 (2%) больных I группы и 0 (0%) II группы

($p=0,377$), 2 степень – у 11 (22%) и 2 (5%) ($p=0,022$), 3 степень – у 20 (39%) и 20 (48%) ($p=0,363$) пациентов соответственно. Степень повышения артериального давления (АД) иллюстрирует рисунок 3.



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

Рисунок 3 – Степень повышения АД у больных I и II группы

Стенокардия напряжения была диагностирована у 5 (10%) пациентов I группы и 1 (2,4%) больных II группы, постинфарктный кардиосклероз у 10 (20%) и 6 (14,6%) пациентов соответственно, что иллюстрирует рисунок 4.

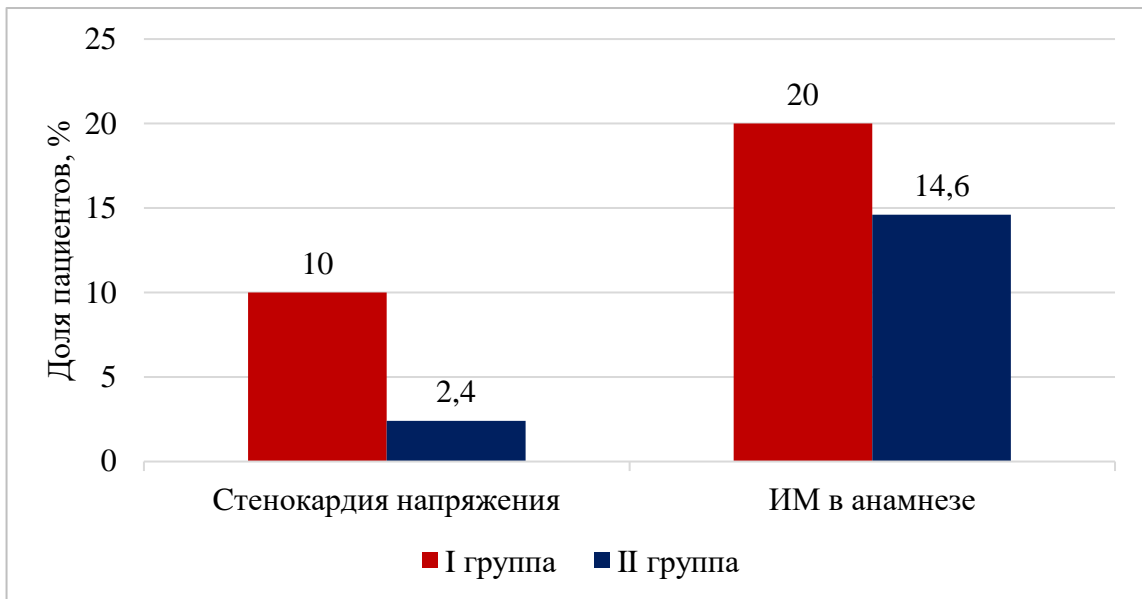
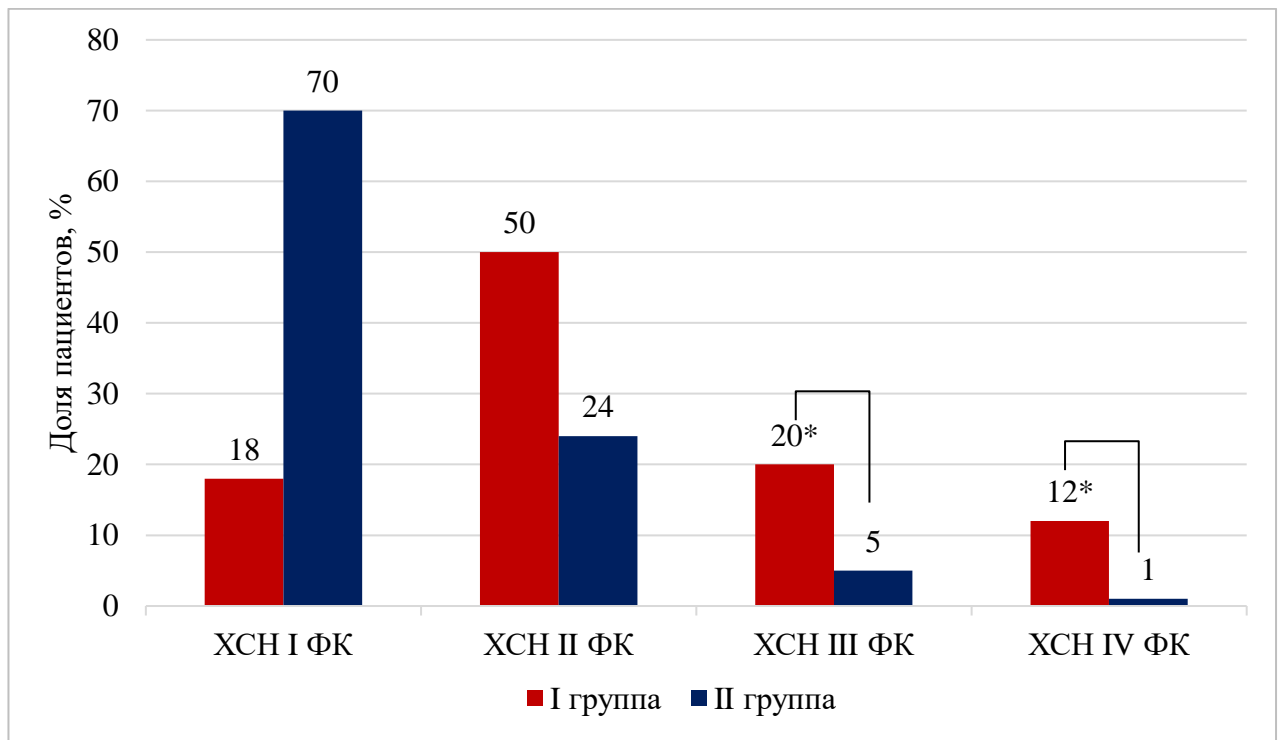


Рисунок 4 – Распределение больных по степени тяжести ИБС

У пациентов I группы достоверно чаще была диагностирована ХСН III и IV функционального класса, чем во II группе, что иллюстрирует рисунок 5.



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

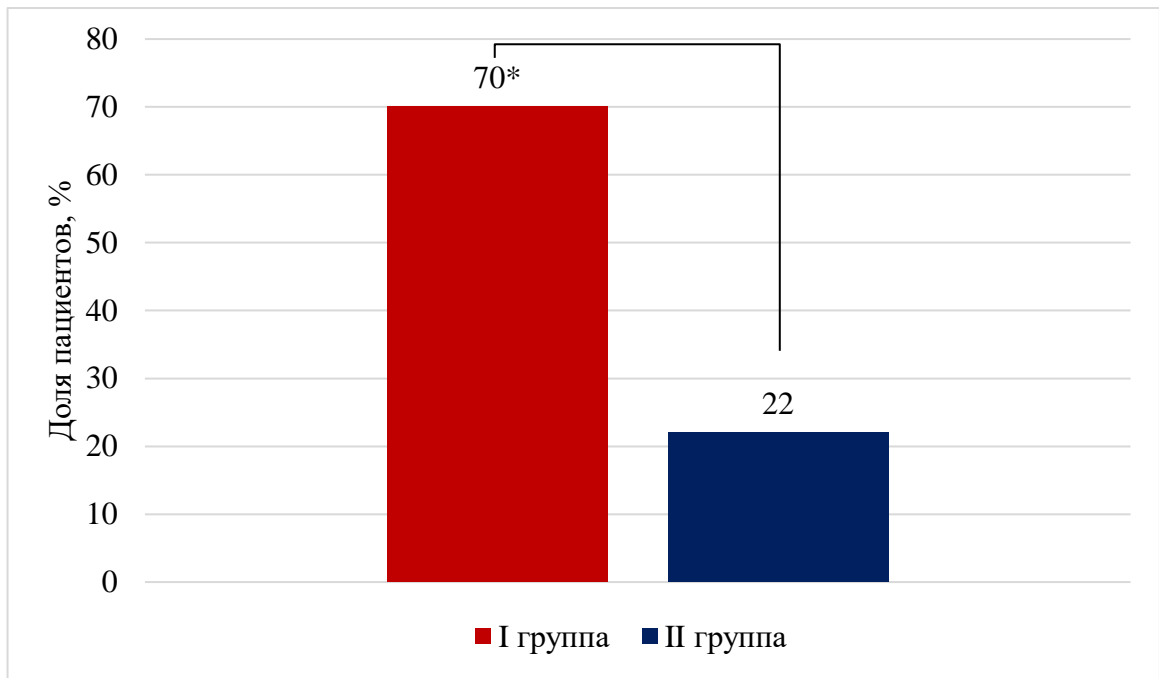
Рисунок 5 – Распределение больных I и II группы по степени тяжести ХСН

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. Лекарственная терапия представлена в таблице 4.

Таблица 4 – Лекарственная терапия, проводимая пациентам

Группа препаратов	I группа	II группа	p-value
Ингибиторы АПФ	28 (55%)	20 (50%)	0,634
БРА	13 (25%)	9 (22%)	0,737
β -блокаторы	45 (88%)	35 (85%)	0,675
Петлевые диуретики	20 (40%)	19 (46%)	0,565
Антагонисты минералокортикоидных рецепторов	37 (72%)	28 (69%)	0,754
Антикоагулянты	23 (46%)	23 (58%)	0,255
Селективный обратимый ингибитор натрий-глюкозного котранспортера 2-го типа	5,1 (10%)	4,92 (12%)	0,760
Антагонист рецепторов ангиотензина II в комбинации с ингибитором неприлизина	7 (13%)	6 (14,6%)	0,825

Антибактериальная терапия проводилась всем пациентам в соответствии с современными клиническими рекомендациями по лечению пневмонии [99]. Смена антибактериальной терапии более 1 раза достоверно чаще проводилась в I группе (Рисунок 6).



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

Рисунок 6 – Смена антибактериальной терапии в исследуемых группах

2.2. Дизайн диссертационного исследования

В ретроспективное одноцентровое исследование из 12 632 историй болезней пациентов, которые были госпитализированы с 2016 по 2024 год в клинику факультетской терапии №2, были отобраны для анализа 92 истории болезни пациентов с ХСН и внутрибольничной пневмонией (Рисунок 7).



Рисунок 7 – Дизайн исследования

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 8).

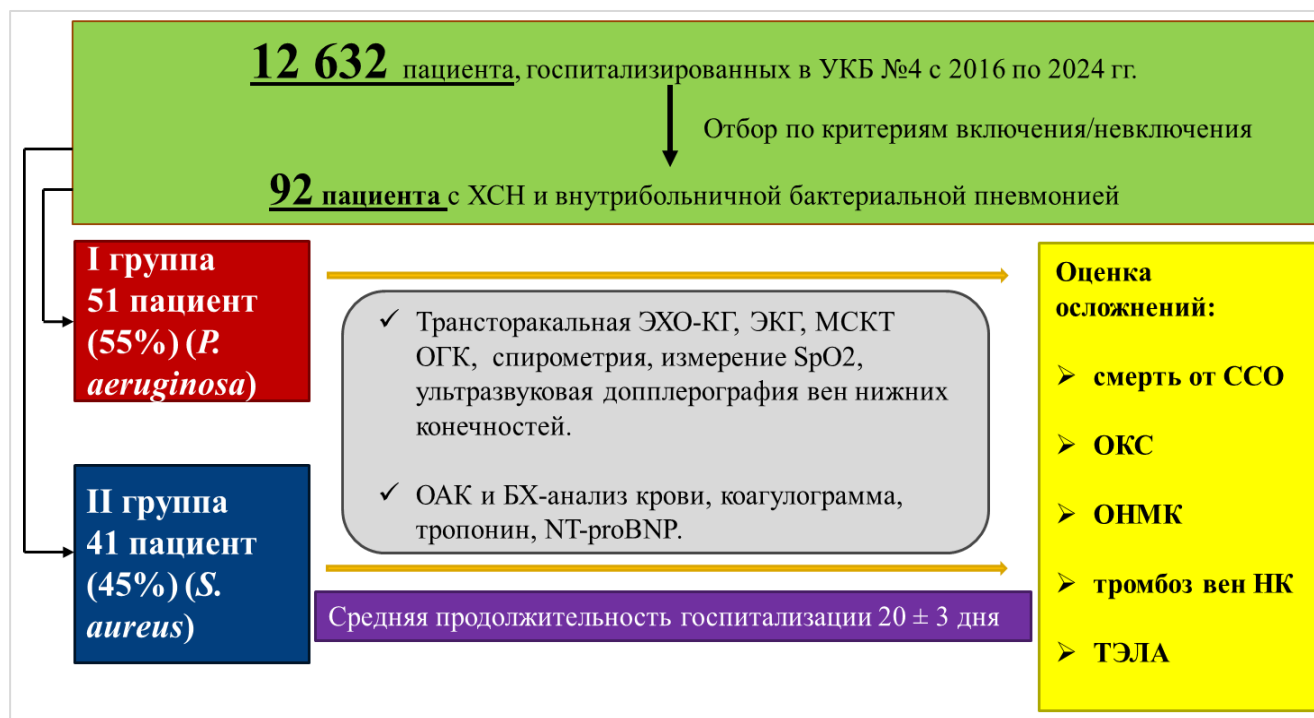


Рисунок 8 – Конечные точки исследования

Всем больным было проведено комплексное клинико–лабораторное и инструментальное обследование, в том числе рутинные лабораторные методы исследования (клинический анализ крови, биохимическое исследование крови, коагулограмма), определение тропонина, мозгового натрийуретического пептида, электрокардиография, эхокардиографическое исследование в первые сутки госпитализации, мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) органов грудной клетки и головного мозга, определение сатурации кислорода пульсоксиметром на воздухе, спирометрия, ультразвуковая доплерография вен нижних конечностей.

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 9).

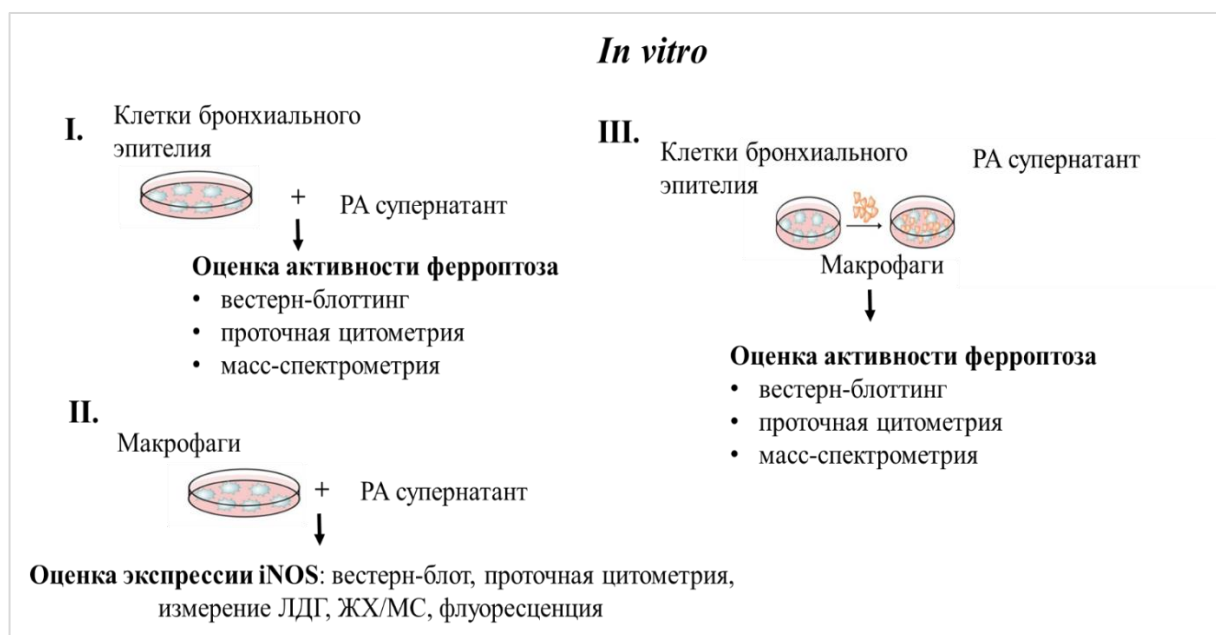


Рисунок 9 – Дизайн экспериментальной части работы

2.3. Методы обследования

2.3.1. Эхокардиографическое исследование

Трансторакальная эхокардиография проводилась с помощью аппарата «Siemens», Германия, с датчиком с частотой 3,74 МГц, в модальных режимах М и В. Был проведен анализ систолической и диастолической функций сердца (фракция выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) в %), размеров камер сердца: левого предсердия (объем полости ЛП в мл); левого желудочка (конечно–диастолический размер левого желудочка (КДР ЛЖ) и конечно–систолический размер ЛЖ (КСР ЛЖ) в мм); толщина задней стенки левого желудочка (ТЗС ЛЖ) и толщина межжелудочковой перегородки (ТМЖП ЛЖ) в мм; индекс массы миокарда левого желудочка ЛЖ в г/м²; проводилась оценка систолического давления в легочной артерии (СДЛА) в мм рт.ст.

2.3.2. Диагностика поражения дыхательной системы

Для оценки объема поражения легочной ткани при бактериальной пневмонии проводилась мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) органов грудной клетки. КТ проводилось при появлении клинических симптомов пневмонии от 3-х суток после госпитализации в стационар. Исследование проводилось с помощью аппарата TOSHIBA Aquilion PRIME (Япония). Параметры настройки МСКТ: поле зрения до 200 мм, время вращения 0,35 с, время оборота системы трубка–детектор 0,5 с, напряжение 120 кВ, ток трубки от 110 до 450 мА (определяется автоматически в зависимости от телосложения пациента). Сканирование осуществлялось в аксиальной плоскости с дальнейшей реконструкцией в сагиттальной и фронтальной плоскостях. Толщина среза была равна 0,625мм, протяженность поля составляла в среднем 35–40 см от верхней до нижней апертуры грудной клетки.

С целью оценки тяжести дыхательной недостаточности и необходимости кислородной поддержки пациентам проводилось определение сатурации кислорода с помощью пальчикового пульсоксиметра Riester Ri Fox N 1905 (Германия) на воздухе. Сатурацию измеряли в % путем установки инфракрасного датчика на подушечку указательного палец правой или левой руки.

Спирометрия выполнялась с помощью аппарата Spirovit SP–1 Schiller для оценки выраженности обструктивных нарушений. Был проведен анализ объема форсированного выдоха за 1 секунду (ОФВ1) в %, жизненной емкости легких (ЖЕЛ) в %, форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ) в %, индекса Тиффно в %.

2.3.3. Диагностика поражения головного мозга

При подозрении на ОНМК для оценки объема поражения головного мозга проводилась мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) головного мозга. Исследование проводилось с помощью аппарата TOSHIBA Aquilion PRIME

(Япония). Параметры настройки МСКТ: поле зрения до 200 мм, время вращения 0,35 с, время оборота системы трубка–детектор 0,5 с, напряжение 120 кВ. Сканирование осуществлялось в аксиальной плоскости с дальнейшей реконструкцией в сагиттальной и фронтальной плоскостях.

2.3.4. Диагностика тромбоза вен нижних конечностей

Для диагностики развития тромбоза вен нижних конечностей была проведена ультразвуковая доплерография вен нижних конечностей с помощью аппарата ACCUVIX A30, Samsung в режиме цветового доплеровского картирования.

2.3.5. Диагностика лабораторных маркеров хронической сердечной недостаточности

С целью оценки плазменной концентрации мозгового натрийуретического пептида (NT–proBNP) проводился забор венозной крови из кубитальной вены в вакуумные пробирки.

Определение концентрации NT–proBNP в сыворотке крови проводилось методом иммуноферментного анализа (ELISA) BIOMEDICA для количественного анализа NT–proBNP. Нормальные значения – 0 – 125 пг/мл.

2.4. Исследование модели ферроптотического повреждения клеток бронхиального эпителия при инфекции *Pseudomonas aeruginosa*

2.4.1. Культура клеток

Макрофаги (RAW 264.7) культивировали при 37°C и 5% CO₂ в среде DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) с добавлением 10% фетальной телячьей сыворотки (FCS; Sigma–Aldrich) и 100 ед/мл пенициллина–стрептомицина (Thermo Fisher Scientific). НБЕ клетки (Human Bronchial Epithelial Cells) (линия клеток

бронхиального эпителия человека, созданная D. Gruenert) культивировались в минимальной эссенциальной среде (MEM; Thermo Fisher), с добавлением 10% фетальной телячьей сыворотки (Gibco), 50 ед/мл пенициллина–стрептомицина (Thermo Fisher), плазмоцина (InvivoGen) и L–глутамина (Thermo Fisher).

2.4.2. Штаммы бактерий

Мутант *P. aeruginosa*, характеризующийся гипер–биопленкой ($\Delta wspF$), и штаммы с дефицитом pLoxA ($loxA::Tn$), использованные в данном исследовании, были получены из библиотеки транспозонных мутантов *P. aeruginosa*, Университета Вашингтона (Сиэтл). Изоляты *P. aeruginosa* (устойчивые к тобрамицину) из отделений интенсивной терапии были выделены в лаборатории клинической микробиологии Медицинского центра Питтсбургского Университета (IRB № PRO12060302) и обозначены как TRPA002–TRPA122.

2.4.3 Сбор супернатанта *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa выращивали в среде LB (лизогенная среда) при 37°C, 220 об/мин в течение 14 часов, а затем повторно инокулировали в среду MEM (без фенолового красного) при OD600 0,05 в 96–луночные виниловые микротитровальные планшеты (100 мкл на лунку; Costar). Затем планшеты инкубировали при 37°C без перемешивания в течение 24 часов. Супернатант собирали после двойного центрифугирования при 3000 g в течение 8 минут, а затем замораживали перед дальнейшим использованием в экспериментах на клеточных культурах.

2.4.4. Эксперименты по нокдауну с помощью siРНК

Две малых интерферирующих РНК (siРНК), содержащие фермент Dicer, против iNOS (mm.Ri. Nos2.13.1 и mm.Ri. Nos2.13.2) или ГП 4 (hs.Ri.GPX4.13.1 и

hs.Ri.GPX4.13.2) или контрольная скремблированная DsiPHK (51–01–14–04) (Integrated DNA Technology) были трансфецированы в макрофаги или эпителиальные клетки (HBE) с помощью RNAimax (Life Technology) согласно инструкции. После трансфекции (через 12 или 8 часов) клетки подсчитывали, высевали в 6–луночный планшет для экспериментов по совместному культивированию или в 6–сантиметровую чашку для вестерн–блота и инкубировали с супернатантом *P. aeruginosa* в течение 48 часов.

2.4.5. Сверхэкспрессия iNOS

Эпителиальные клетки трансфицировали с 1 мкг только вектора (pCMV6) или ДНК pCMV6–iNOS с помощью Липофектамина 3000 (Life Technology) в течение 12 часов. Затем клетки подсчитывали и анализировали процент гибели клеток или АФК в отсутствие или в присутствии ферростатина–1 или ингибиторов iNOS (L–NIL и 1400W). Эпителиальные клетки трансфицировали 1 мкг ДНК только вектора (pCMV6) или pCMV6–ГП 4 с помощью Липофектамина 3000 (Life Technology) в течение 12 часов. Затем клетки подсчитывали и анализировали процент АФК.

2.4.6. Анализ активности ферроптоза

Эпителиальные клетки высевали в 24–луночные планшеты (20 000 клеток на лунку) в течение 48 часов, затем добавляли супернатант *P. aeruginosa*, RSL3 или эрастин вместе с ферростатином –1 или ингибиторами других типов гибели клеток MG132, PS341, NH₄Cl и хлорохином (CQ) или NO – донорами в течение 20 часов. Гибель клеток анализировали методом проточной цитометрии, применяя окрашивание пропидия йодида (PI). Макрофаги высевали в 24–луночные планшеты, затем активировали супернатантом *P. aeruginosa* в течение 24 часов. Затем клетки инкубировали в новой среде с RSL3 или эрастином и оценивали

гибель клеток через 12 часов с помощью анализа высвобождения лактатдегидрогеназы (ЛДГ).

2.4.7. Анализ активных форм кислорода при перекисном окислении липидов с помощью BODIPY–C11

Для анализа АФК эпителиальные клетки высевали в 12–луночные планшеты на 48 часов перед добавлением супернатанта *P. aeruginosa*. Через 14 часов после добавления супернатанта клетки инкубировали с 5 мкМ BODIPY 581/592–C11 (Invitrogen, D3861) в течение 25–30 мин при 37 °С. Затем клетки трипсинизировали, промывали в сбалансированном солевом растворе Хэнкса (HBSS) и ресуспендировали в HBSS, после чего проводили проточную цитометрию с использованием канала FL1 на проточном цитометре BD Canto–II (BD Biosciences). Для анализа данных использовалось программное обеспечение FlowJo.

2.4.8. Совместное культивирование клеток

Эпителиальные клетки в плотности $0,08 \times 10^6$ клеток на лунку высевали в 6–луночные планшеты в течение 48 часов, а затем метили добавлением CellTracker Green (Invitrogen, C7025) (5 мкМ) в течение 45 мин. После промывания в фосфатно–солевом буфере (ФСБ) добавляли макрофаги ($0,08 \times 10^6$) и инкубировали в течение 6 часов перед обработкой совместно культивируемых клеток супернатантом *P. aeruginosa* вместе с ферростатином–1 или ингибитором iNOS L–NIL. Клетки трипсинизировали и маркировали фиксируемым набором для определения жизнеспособности Zombie NIR (BioLegend, 423105) согласно инструкции. После промывки PBS клетки инкубировали в 100 мкл Zombie NIR в ФСБ (разведение 1:1000) в течение 30 мин в темноте, а затем промывали ФСБ, содержащим 0,1% бычьего сывороточного альбумина (БСА). Затем клетки фиксировали 4% параформальдегидом и анализировали методом проточной цитометрии. Сбор данных проводили методом многоцветной проточной цитометрии на цитометре

LSRII с программным обеспечением FACS DIVA (BD Bioscience). Дважды позитивные (Cell tracker Green+/Zombie+) эпителиальные клетки учитывались для анализа с помощью программного обеспечения FlowJo.

2.4.9. Вестерн-блот анализ

Лизаты клеток получали после промывания клеток в фосфатно-солевом буфере и лизирования в буфере (25 мМ Tris-HCl, pH 7,5, 150 мМ NaCl и 1% SDS) или путем ресуспендирования осадка в буфере для лизиса RIPA (Thermo Fisher), содержащем смесь ингибиторов протеаз и фосфатаз. Образцы обрабатывали ультразвуком. Общее количество белка оценивали с помощью анализа белка бицинониновой кислотой (BCA) (Thermo Fisher) и разводили в 2х буфере Лэммли перед загрузкой в 8–16% градиентные гели (Life Technologies). Затем белки переносили на PVDF-мембрану и блокировали в фосфатно-солевом буфере (5% молока) в течение 1 часа. Антитела: анти-ГП 4 (1:2000), анти-iNOS (1:1000), анти-Lamp2a (1:1000) и анти- β -актин (1:1000 в течение 1 ч) инкубировали в течение ночи при комнатной температуре. Мембраны промывали в фосфатно-солевом буфере с Tween 20 (PBST), затем инкубировали с вторичным антителом HRP-конъюгирующим козьим анти-кроличьим IgG (1:2000, 1 час), а затем проявляли хемилюминесцентным субстратом Super Signal West Pico (Thermo Fisher) с использованием Amersham Imager 600 (GE Health Care, Life Sciences). Для определения экспрессии белка iNOS в макрофагах методом проточной цитометрии клетки окрашивали анти-CD11b антителом, конъюгированным с BVV605 (Biolegend), после чего проводили внутриклеточное окрашивание с фиксацией и пермеабелизацией антителом anti-iNOS, конъюгированным с AlexaFL700 (BD Bioscience).

2.4.10. Флуоресцентная микроскопия

Визуализация живых клеток и количественная оценка. Клетки высевали на 35–миллиметровые чашки со стеклянным дном (MatTek Corporation) и инкубировали с Липерфлуо (10 мкМ; Dojindo Molecular Technology) или DAR–4М (5 мкМ) в течение 30 мин. при 37 °С. Клетки промывали фосфатно–солевым буфером, заменяли среду и помещали блюдо в закрытый терморегулируемый (37 °С) Stage Top инкубатор (Tokai Hit Co.). Для визуализации применялся флуоресцентный микроскоп Nikon TiE (Nikon), оснащенный оптикой с масляной иммерсией $\times 60$ (Nikon, CFI PlanFluor, NA1.43) и программным обеспечением NIS Elements software. Липерфлуо или DAR–4М возбуждали с помощью светового двигателя с диодной накачкой Lumencor (SpectraX, Lumencor) и регистрировали с помощью камеры ORCA–Flash 4.0 sCMOS–камеры (Hamamatsu Corporation), а также возбуждающих и эмиссионных фильтров от Chroma Technology. Для экспериментов с временной разверткой данные собирали каждые 5 мин в течение 3 ч, на ~ 10 –20 клетках в каждой позиции, по 10–15 позиций в каждом из трех отдельных экспериментов на условие. Анализ данных проводили с помощью программы NIS Elements (Nikon).

2.4.11. Анализ фосфолипидов методом жидкостной хроматографии с тандемной масс–спектрометрией

МС–анализ фосфолипидов проводили на масс–спектрометре Orbitrap Fusion Lumos (Thermo Fisher). Фосфолипиды разделяли на колонке с нормальной фазой (Luna 3 μm Silica (2) 100 Å, 150 \times 2,0 мм, Phenomenex) при скорости потока 0,2 мл мин^{–1} на системе высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) Dionex Ultimate 3000. Колонка поддерживалась при температуре 35 °С. Анализ проводили с использованием градиентных растворителей (А и В), содержащих 10 мМ ацетат аммония. Растворитель А содержал пропанол:гексан:воду (285:215:5, объем/объем/объем), а растворитель В – пропанол:гексан:воду (285:215:40, объем/объем/объем). Все растворители были класса ЖХ/МС. Колонка

элюировалась в течение 0–23 мин линейным градиентом 10–32% В; 23–32 мин линейным градиентом 32–65% В; 32–35 мин линейным градиентом 65–100% В; 35–62 мин удерживалась при 100% В; 62–64 мин линейным градиентом от 100% до 10% В с последующим уравниванием от 64 до 80 мин при 10% В. Прибор работал с электрораспылительным ионизационным зондом в режиме отрицательной полярности. Анализ данных ЖХ/МС проводили с помощью программного пакета Compound Discoverer (Thermo Fisher) с собственным разработанным процессом анализа и базой данных окисленных фосфолипидов. Липиды далее фильтровались по времени удерживания и подтверждались фрагментацией.

2.5. Статистическая обработка данных

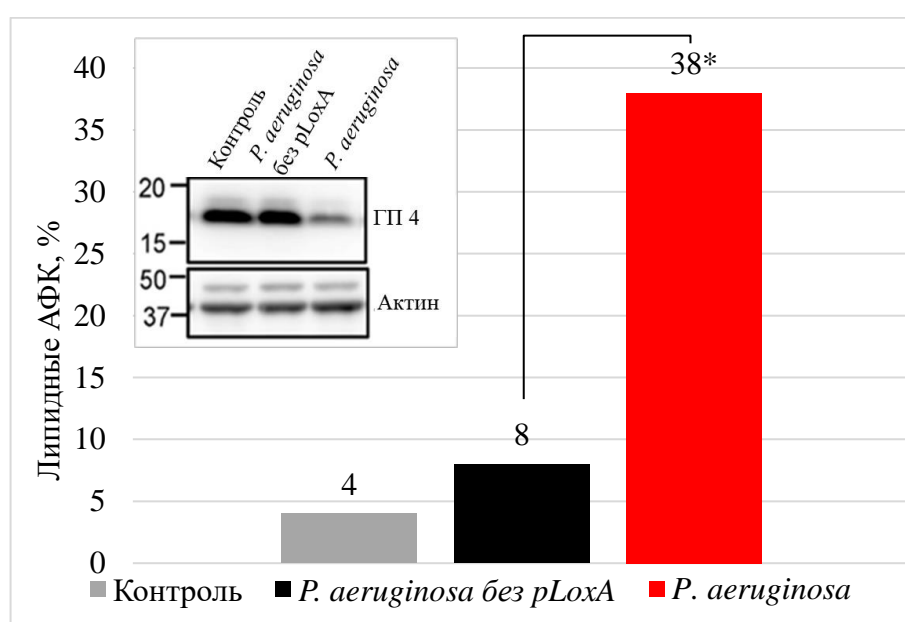
Статистическая обработка данных выполнена с помощью программы jamovi версии 2.0.1 для операционной системы macOS BigSur версии 11.5.2. Для представления количественных данных использовалась медиана с указанием интерквартильного размаха (Me [Q1:Q3]). Представление качественных данных осуществлялось с 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.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1. 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 10).



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

Рисунок 10 – Уровни 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 [77]

Наши дальнейшие исследования показали, что ингибиторы лизосомального пути деградации NH₄Cl и CQ в отличие от ингибиторов протеасом MG132 и PS341 в 2 раза чаще предотвращали гибель клеток от супернатанта *P. aeruginosa* и в 4 раза уменьшали активность перекисного окисления липидов, что предполагает участие лизосом в ферроптозе, индуцированном *P. aeruginosa* (Таблица 5).

Таблица 5 – Процент гибели клеток и уровни АФК после добавления к клеткам бронхиального эпителия супернатанта *P. aeruginosa* в присутствии указанных ингибиторов [77]

Образец	Гибель клеток, %	Липидные АФК, %
Контроль	4	2
<i>P. aeruginosa</i>	36#	56#
<i>P. aeruginosa</i> + Ферростатин-1	5*	15*
<i>P. aeruginosa</i> + NH ₄ Cl (20 мМ)	13*	13*
<i>P. aeruginosa</i> + CQ (20 мкМ)	18*	14*
<i>P. aeruginosa</i> + MG132 (10 мкМ)	37	54
<i>P. aeruginosa</i> + PS341 (500 нМ)	40	42

Примечание: # – $p < 0,0001$ при сравнении с контролем; * – $p < 0,001$ при сравнении с *P. aeruginosa*

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 CQ предотвращали деградацию ГП 4 (Рисунок 11).

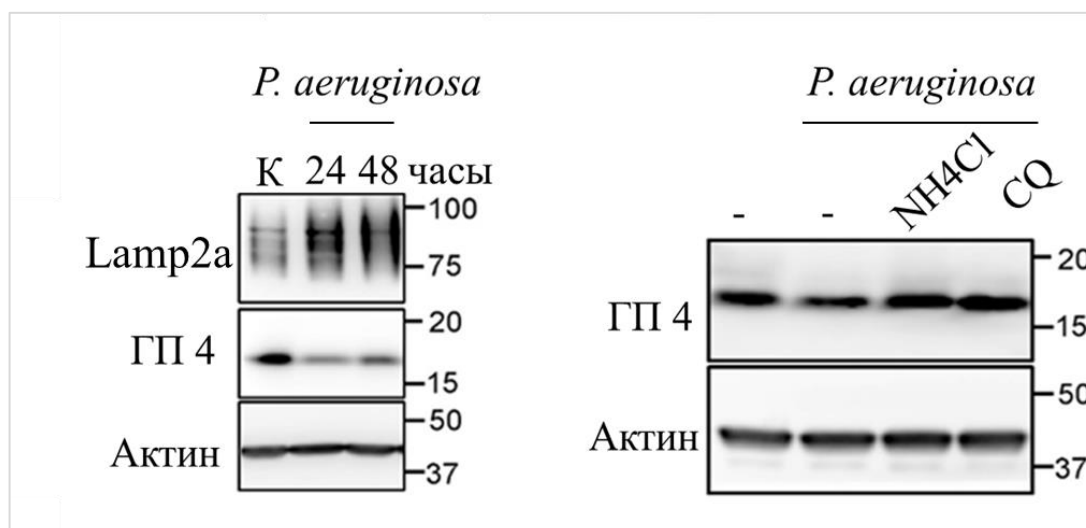


Рисунок 11 – Снижение экспрессии ГП 4 и активация Lamp2a в эпителиальных клетках после добавления супернатанта *P. aeruginosa* (РА) (левая панель) и сохранение ГП 4 в присутствии NH₄Cl или CQ (правая панель) [77]

Для уточнения роли липоксигеназы pLoxA и ГП 4 в ферроптотической гибели клеток при инфекции *P. aeruginosa* был проведен корреляционный анализ. При постоянном уровне глутатиона прослеживается корреляционная связь между активностью pLoxA и процентом гибели клеток ($r=0,76$, $p=2,4 \times 10^{-6}$) (Рисунок 12).

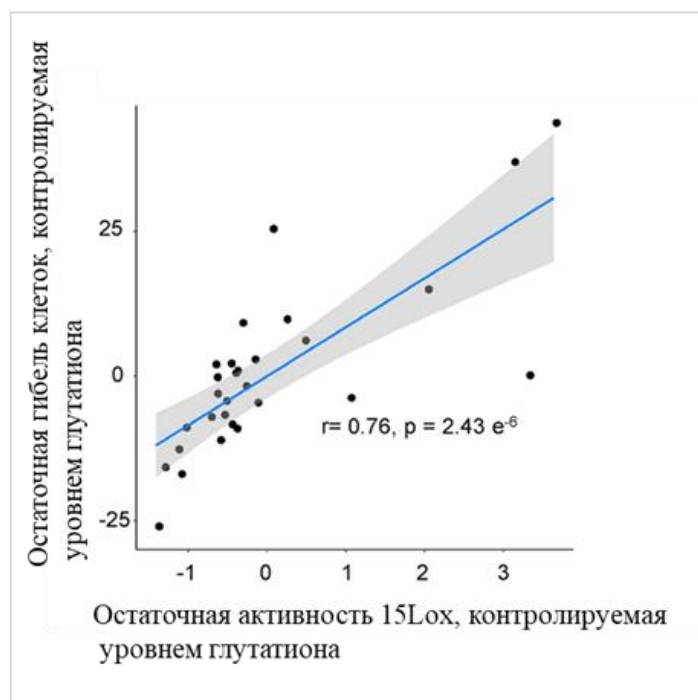


Рисунок 12 – Корреляционная взаимосвязь между постоянным уровнем глутатиона и увеличивающейся активностью pLoxA [77]

При постоянном уровне pLoxA определяется отрицательная корреляционная взаимосвязь между уровнем глутатиона и процентом гибели клеток ($r = -0,68$, $p = 7,5 e^{-6}$) (Рисунок 13).

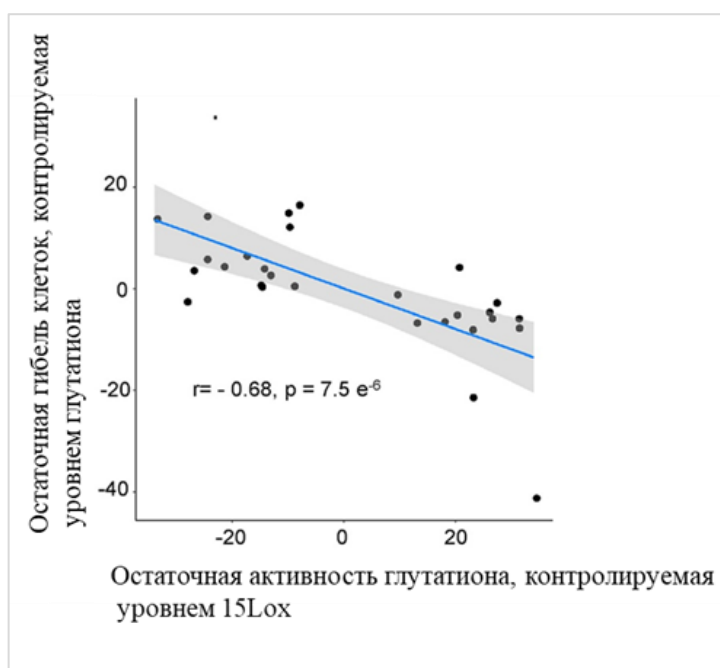


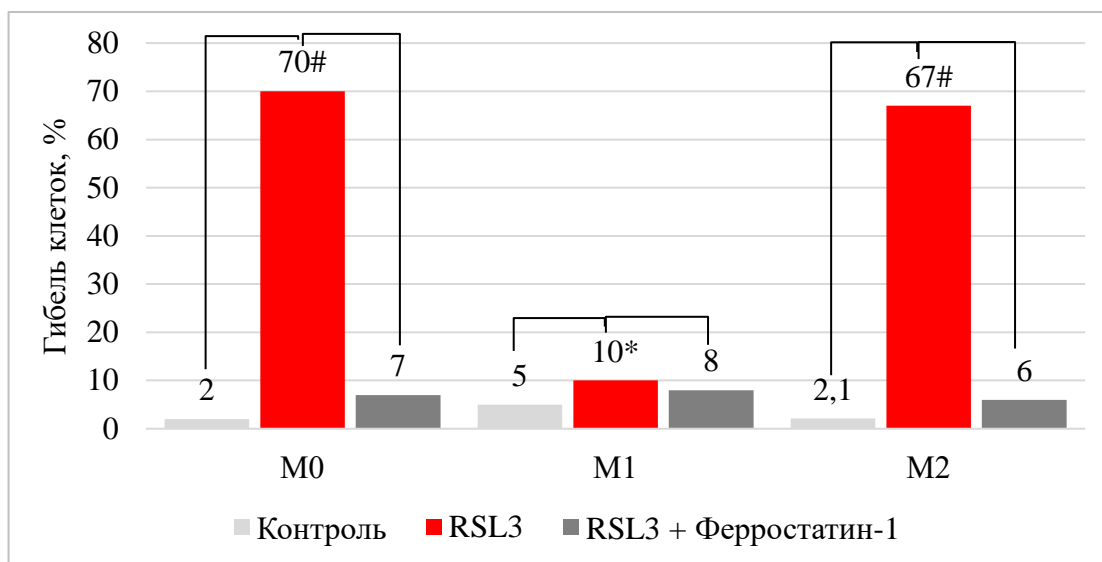
Рисунок 13 – Корреляционная взаимосвязь между постоянной активностью pLoxA и изменяющейся активностью глутатиона [77]

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.

3.2. Значение экспрессии оксида азота в защите клеток эпителия от ферроптотической гибели

Макрофаги могут быть активированы по фенотипам, которые часто делятся на две большие категории: M1 и M2. В ответ на воспалительные сигналы, такие как интерферон–гамма и липополисахарид, макрофаги поляризуются в классическое, или M1, состояние, характеризующееся экспрессией iNOS, интерлейкинов 6 и 12. Напротив, альтернативно активированные макрофаги M2 поляризуются под действием противовоспалительных сигналов, таких как интерлейкины 4 и 13 [79].

После перехода в провоспалительное состояние M1 макрофаги становятся устойчивыми к ферроптозу, индуцированному RSL3, что иллюстрирует рисунок 14.



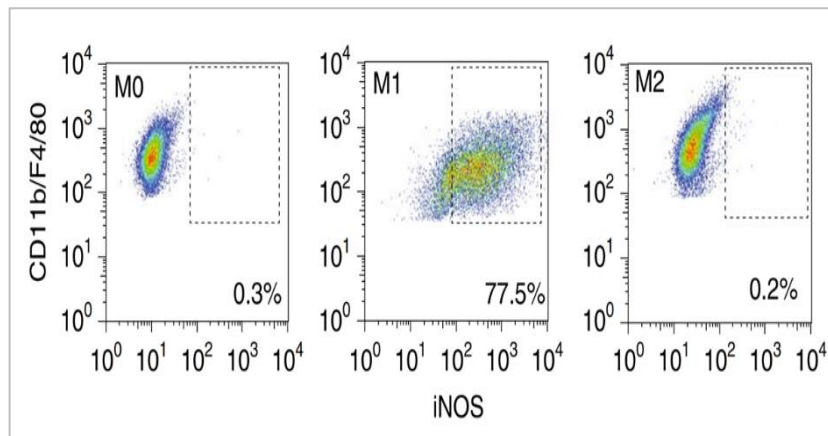
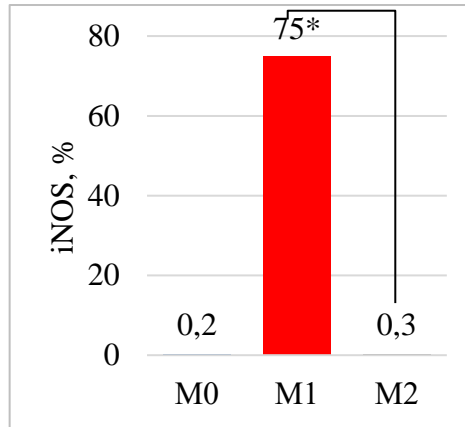
Примечание: # – $p < 0,0001$ при сравнении с контролем; * – $p < 0,0001$ при сравнении с M2/RSL3
 Рисунок 14 – Уровни гибели M0, M1 и M2 макрофагов после инкубации с RSL3 в течение 5 часов [79]

При этом, не было отмечено значимых различий между содержанием 15–липоксигеназы и ГП 4 в макрофагах разного фенотипа (Таблица 6).

Таблица 6 – Содержание 15–липоксигеназы и ГП 4 в разных фенотипах макрофагов после добавления RSL3 [79]

Фермент	Образец			
	M0	M1	M2	p-value
15–липоксигеназа, %	80	82	85	>0,05
ГП 4, %	57	59	62	>0,05

Устойчивость M1 макрофагов к ферроптотической гибели и сходное содержание 15–липоксигеназы и ГП 4 в разных фенотипах макрофагов после добавления RSL3 указывают на то, что есть другой механизм защиты M1 макрофагов от ферроптоза. M1 макрофаги характеризуются увеличенной экспрессией NO по сравнению с другими типами макрофагов (Рисунки 15 и 16).



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

Рисунок 15 – Содержание оксида азота в разных фенотипах макрофагов показано методом проточной цитометрии [79]

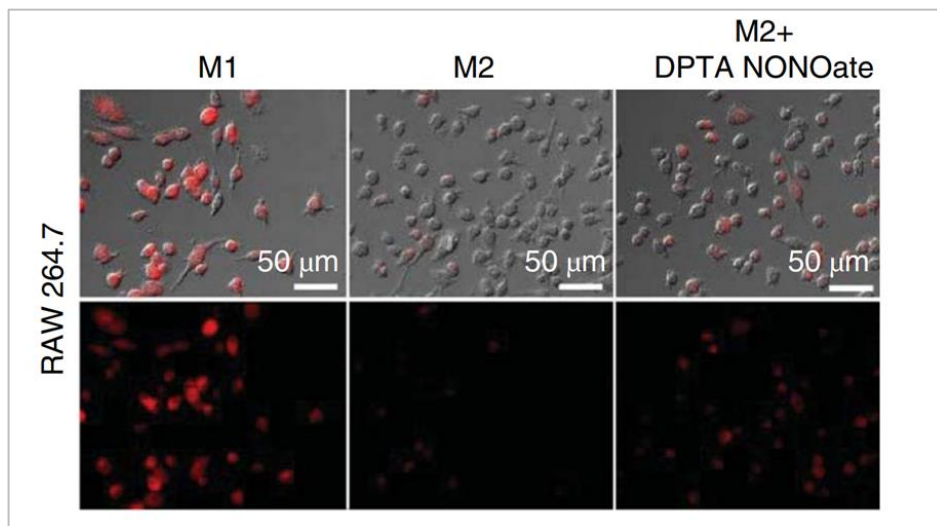
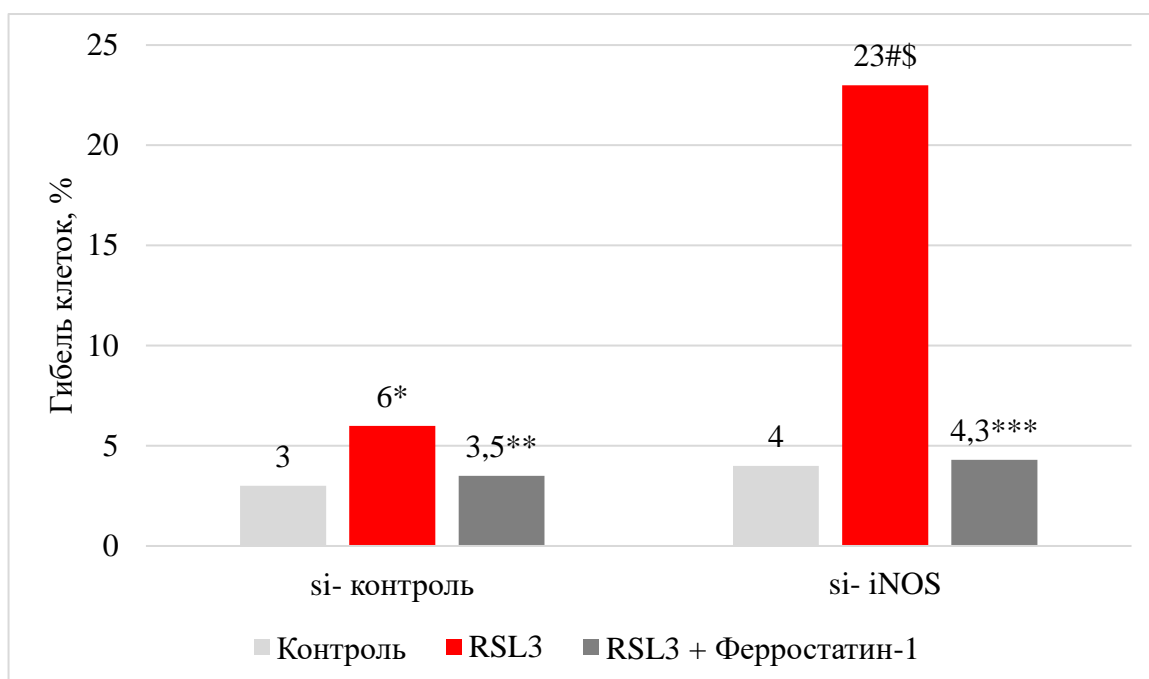


Рисунок 16 – Микроскопия живых макрофагов различного фенотипа [79]

Подавление экспрессии iNOS приводило к сенсibilизации макрофагов M1 к ферроптозу (Рисунок 17).



Примечание: * – $p < 0,002$ при сравнении с si-контроль/контроль; ** – $p < 0,004$ при сравнении с si-контроль/RSL3; # – $p < 0,000$ при сравнении с si-контроль/RSL3; \$ – $p < 0,000$ при сравнении с si-iNOS/контроль; *** – $p < 0,002$ при сравнении с si-iNOS/RSL3

Рисунок 17 – Процент гибели клеток после подавления экспрессии iNOS в макрофагах M1 [79]

Экспрессия iNOS предохраняла макрофаги от ферроптотической гибели независимо от присутствия ГП 4. Подавление синтеза ГП 4 делало M0 и M2 макрофаги уязвимыми для RSL3 индуцированного ферроптоза, что не наблюдается в M1 макрофагах (Таблица 7).

Таблица 7 – Процент гибели разных фенотипов макрофагов после подавления экспрессии ГП 4 и добавления доноров оксида азота [79]

Образец	Гибель клеток, %		
	M0	M1	M2
Контроль			
• RSL3	43	4	42
• Ферростатин-1	4#	5	5#
• DPTA	13#		10#
NONoate			

Продолжение Таблицы 7

si-контроль			
• RSL3	44	3	41
• Ферростатин-1	3#	4	3#
• DPTA NONOate	12#		8#
si- ГП 4			
• RSL3	75	5*	74
• Ферростатин-1	5#	5,5	4#
• DPTA NONOate	15#		12#
<i>Примечание: # – p < 0,0001 по сравнению с соответствующими образцами с RSL3, * – p < 0,0001 по сравнению с RSL3 si-ГП 4/M0 и M2</i>			

Чтобы исследовать влияние iNOS/NO на перекисное окисление липидов и образование липидных гидропероксидов, ассоциированных с проферроптотическими сигналами, был применен метод флуоресценции Liperfluo, который избирательно восстанавливает липидные гидропероксиды до соответствующих спиртов с образованием флуоресцентного продукта. Инкубация M2 макрофагов в присутствии RSL3 вызывала увеличение флуоресцентного сигнала, что указывает на накопление липидных гидропероксидов. Напротив, флуоресценция макрофагов M1 или макрофагов M2, инкубированных с донором NO• – DPTA NONOate, достоверно не различалась (Рисунок 18).

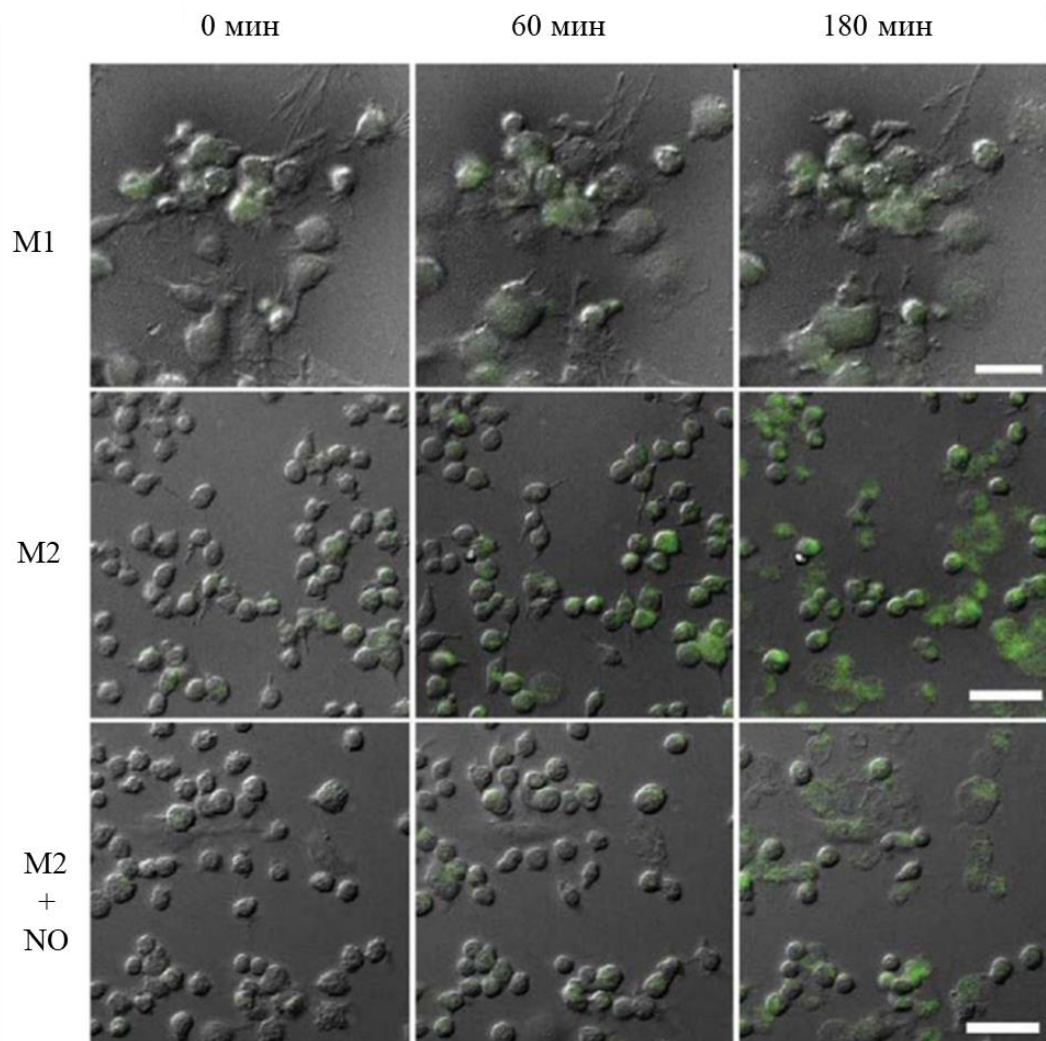


Рисунок 18 – Флуоресцентная визуализация живых макрофагов RAW 264.7 с помощью Liperfluo [79]

Проведенные нами эксперименты показали, что макрофаги, экспрессируя оксид азота, устойчивы к ферроптозу. Следующим этапом нашей работы было изучение способности iNOS предотвращать ферроптоз эпителия, вызванного *P. aeruginosa*. Инкубация макрофагов с супернатантом *P. aeruginosa* привела к их переходу в фенотип M1 с высоким уровнем экспрессии iNOS (Рисунок 19).

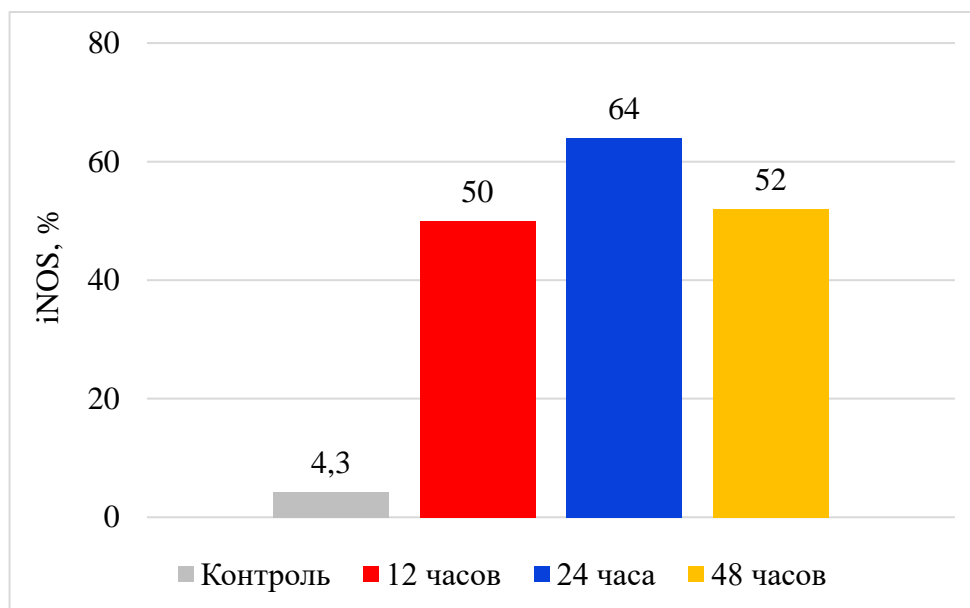
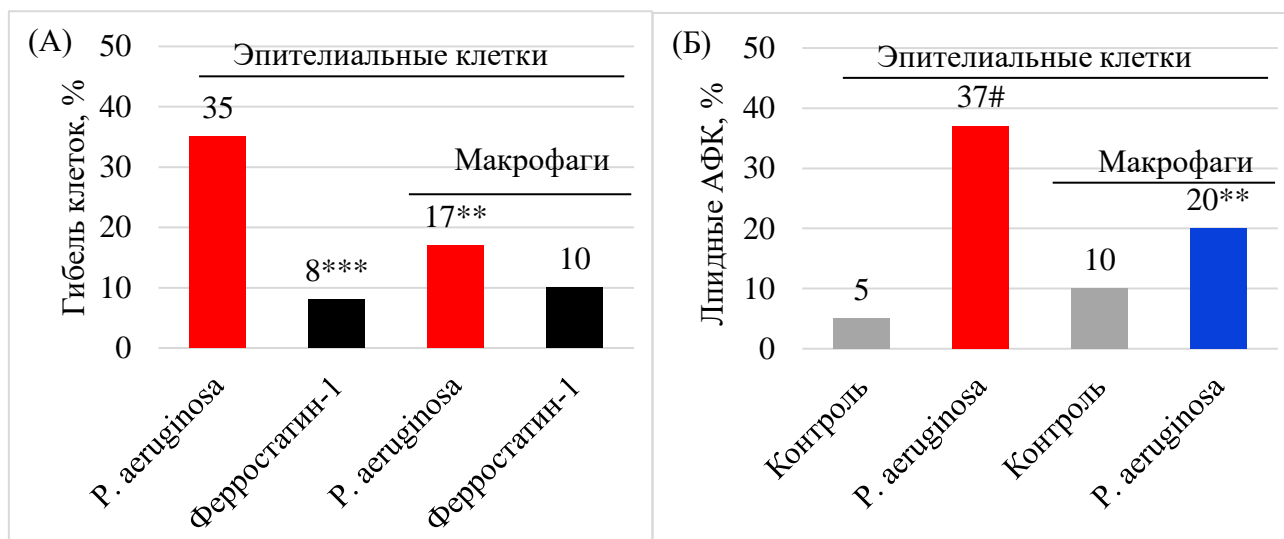


Рисунок 19 – Уровни оксида азота, экспрессируемого макрофагами, после добавления *P. aeruginosa* [77]

При совместном культивировании клеток бронхиального эпителия человека и макрофагов с добавлением супернатанта *P. aeruginosa* было показано, что гибель эпителиальных клеток (Рисунок 20А) и активность перекисного окисления липидов снижались в 2 раза (Рисунок 20Б).



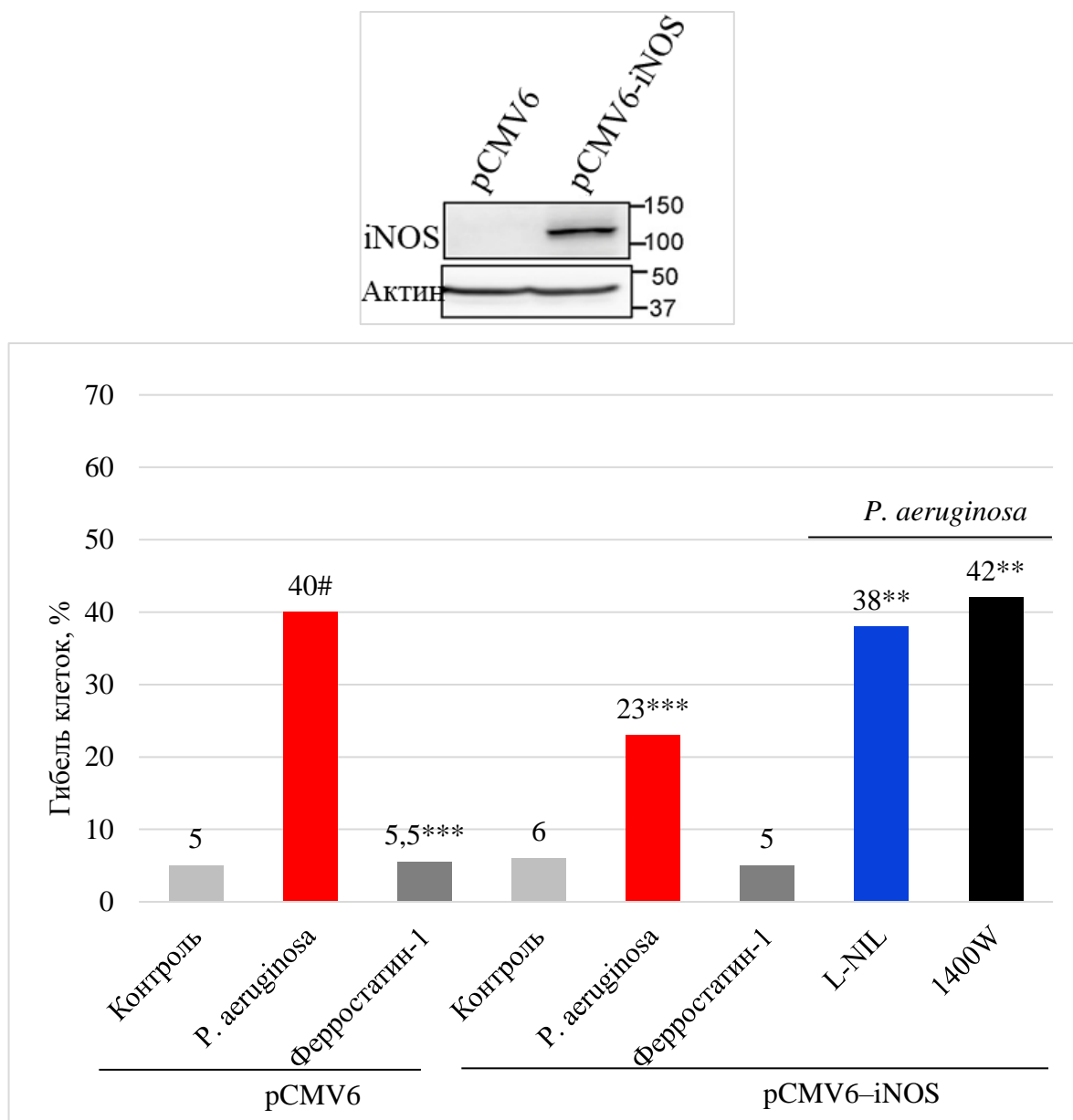
Примечание: *** – $p < 0,0001$; ** – $p < 0,001$ по сравнению с эпителиальными клетками с *P. aeruginosa*; # – $p < 0,0001$ по сравнению с эпителиальными клетками отдельно/контроль
Рисунок 20 – Процент гибели эпителиальных клеток и количество АФК после совместного культивирования с макрофагами [77]

Известно, что iNOS также может экспрессироваться эпителиальными клетками в ответ на цитокины или бактериальные агенты [100], поэтому нами был исследован уровень iNOS в эпителиальных клетках, в ответ на добавление супернатанта *P. aeruginosa*. Добавление супернатанта не стимулировало экспрессию iNOS в данных клетках, что иллюстрирует рисунок 21.



Рисунок 21 – Экспрессия iNOS эпителиальными клетками после добавления супернатанта *P. aeruginosa* [77]

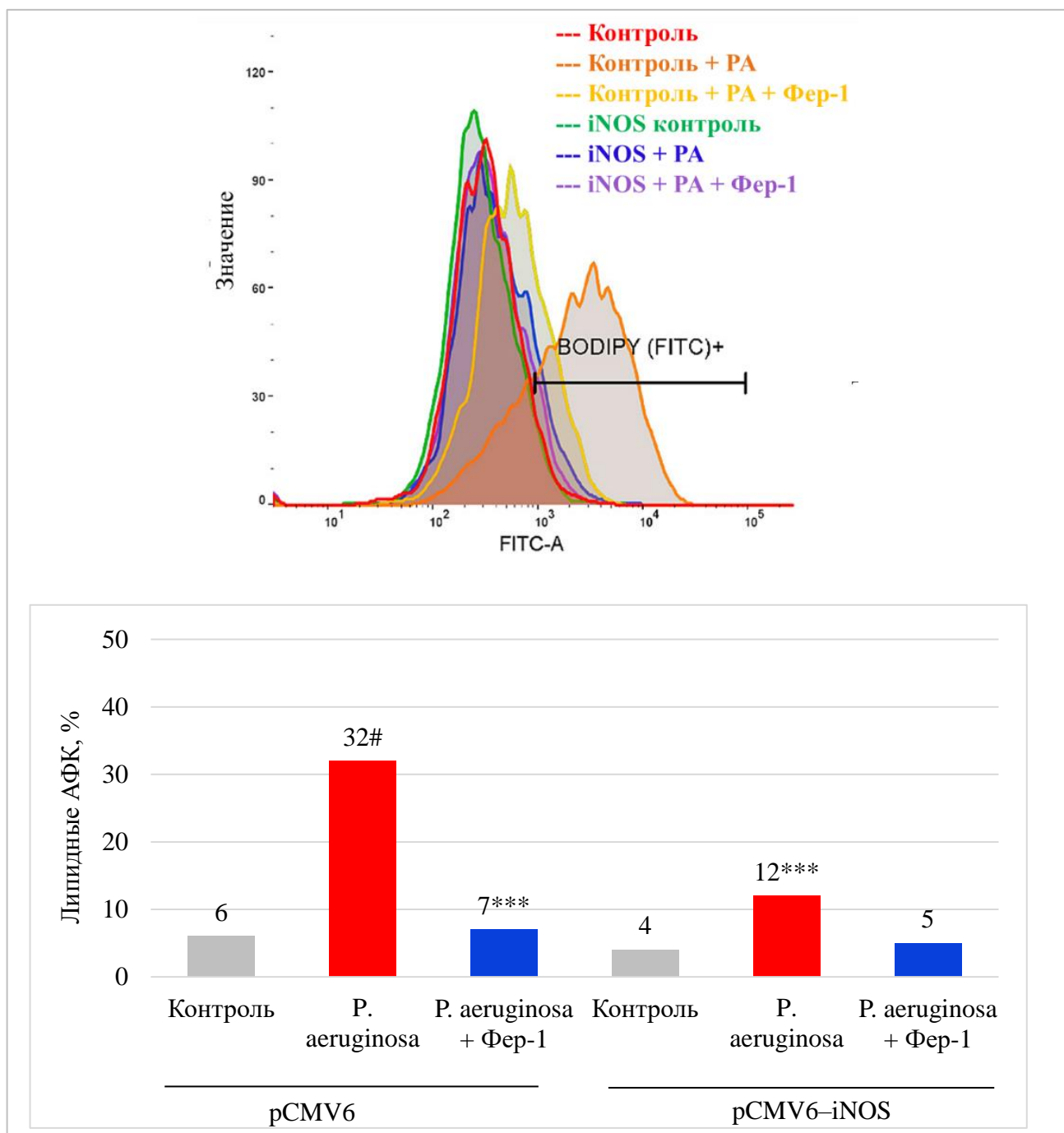
Для подтверждения нашей гипотезы, что антиферроптотический механизм осуществляется за счет iNOS/NO, в эпителиальных клетках были созданы условия экспрессии iNOS (Рисунок 22, верхняя панель). Затем были использованы специфические ингибиторы (L-NIL и 1400W) генерации NO, которые устраняли опосредованную iNOS/NO защиту от ферроптотической гибели эпителиальных клеток (Рисунок 22, нижняя панель).



Примечание: # – $p < 0,0001$ по сравнению с pCMV6/контроль, *** – $p < 0,0001$ по сравнению с *P. aeruginosa*, ** – $p < 0,001$ по сравнению с pCMV6-iNOS/*P. aeruginosa*

Рисунок 22 – Процент гибели эпителиальных клеток после экспрессии в них iNOS с и без ингибиторов iNOS [77]

Подобно ГП 4, экспрессия iNOS приводила к снижению продукции активных форм кислорода после добавления супернатанта *P. aeruginosa*, тем самым воспроизводя ГП 4–подобный эффект (Рисунок 23).



Примечание: # – $p < 0,0001$ по сравнению с контролем, *** – $p < 0,0001$ по сравнению с *P. aeruginosa* без iNOS

Рисунок 23 – Активность перекисного окисления липидов после экспрессии iNOS в эпителиальных клетках и добавления *P. aeruginosa* [77]

Так как наличие ГП 4 достаточно для предотвращения ферроптоза, мы изучили взаимосвязь между ГП 4 и iNOS. Например, может ли iNOS регулировать содержание ГП 4. Для этого мы измерили уровень ГП 4 в эпителиальных клетках в присутствии iNOS. Экспрессия iNOS не повлияла на ГП 4 в базальных условиях или при добавлении супернатанта *P. aeruginosa* (Рисунок 24).

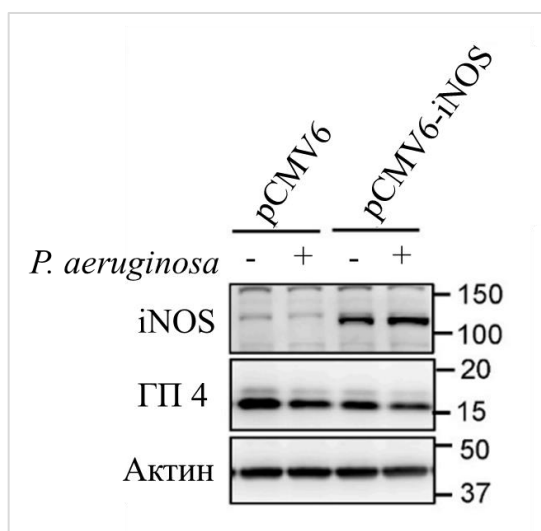


Рисунок 24 – Уровень GP 4 в эпителиальных клетках при экспрессии iNOS [77]

Мы также подтвердили, что индукция iNOS в макрофагах не останавливает деградацию GP 4 после добавления супернатанта *P. aeruginosa* (Рисунок 25).

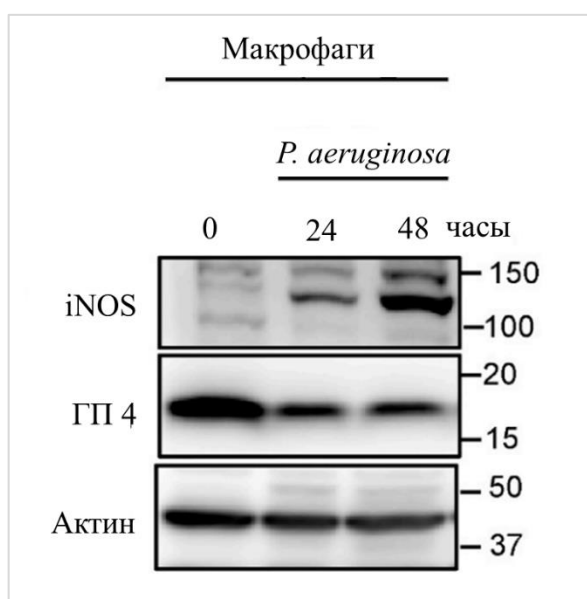
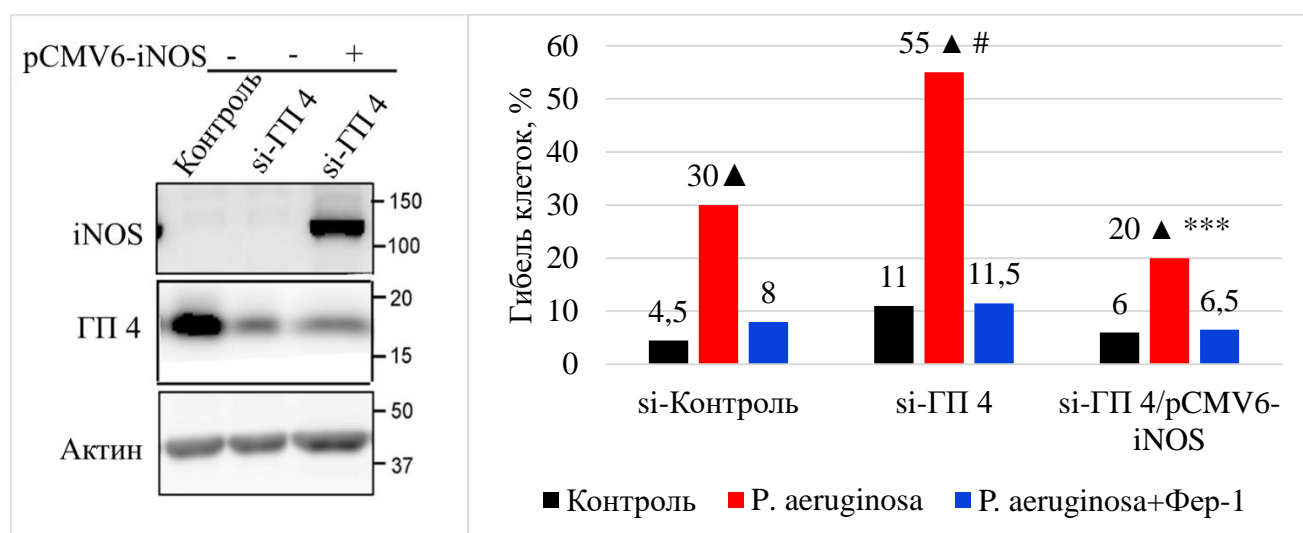


Рисунок 25 – Уровень GP 4 в макрофагах при добавлении супернатанта *P. aeruginosa* [77]

Данный результат подчеркивает, что защита от *P. aeruginosa*-ассоциированного ферроптоза с помощью iNOS достигается не посредством влияния на GP 4, а посредством независимого механизма.

Нами было изучено, может ли iNOS защитить эпителиальные клетки от индуцированной *P. aeruginosa* ферроптотической гибели при снижении GP 4. Для

этого были созданы условия снижения ГП 4 с помощью малых интерферирующих РНК (siРНК), а затем индуцирована экспрессия iNOS. Снижение экспрессии ГП 4 было подтверждено вестерн-блоттингом (Рисунок 25, левая панель). Снижение количества ГП 4 повышало чувствительность эпителиальных клеток к *P. aeruginosa*-ассоциированному ферроптозу и количество активных форм кислорода. Экспрессия iNOS предотвращала ферроптотическую гибель клеток с дефицитом ГП 4 и уменьшала активность перекисного окисления липидов (Рисунок 25, правая панель).



Примечание: ▲ – $p < 0,0001$ по сравнению с соответствующим контролем; # – $p < 0,0001$ по сравнению с si-Контроль/*P. aeruginosa*; *** – $p < 0,0001$ по сравнению с si-ГП 4/*P. aeruginosa*
 Рисунок 25 – Процент гибели эпителиальных клеток после добавления *P. aeruginosa* без ГП 4 с и без экспрессии iNOS [77]

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 8).

Таблица 8 – Процент гибели эпителиальных клеток, культивируемых совместно с макрофагами в присутствии и без ингибитора NO [77]

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

Поскольку NO, экспрессируемый макрофагами, регулирует ферроптотическую гибель клеток независимо от ГП 4, нами была оценена способность NO препятствовать проферроптотическому сигналу 15-НрЕТЕ-РЕ (15-гидропероксид-арахидоноил-фосфатидилэтаноламина). Для этого эпителиальные клетки были помечены с помощью CellTrackerGreen и культивированы совместно с макрофагами (1:1). После обработки супернатантом *P. aeruginosa* эпителиальные клетки были отсортированы с помощью проточной цитометрии. 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 26).

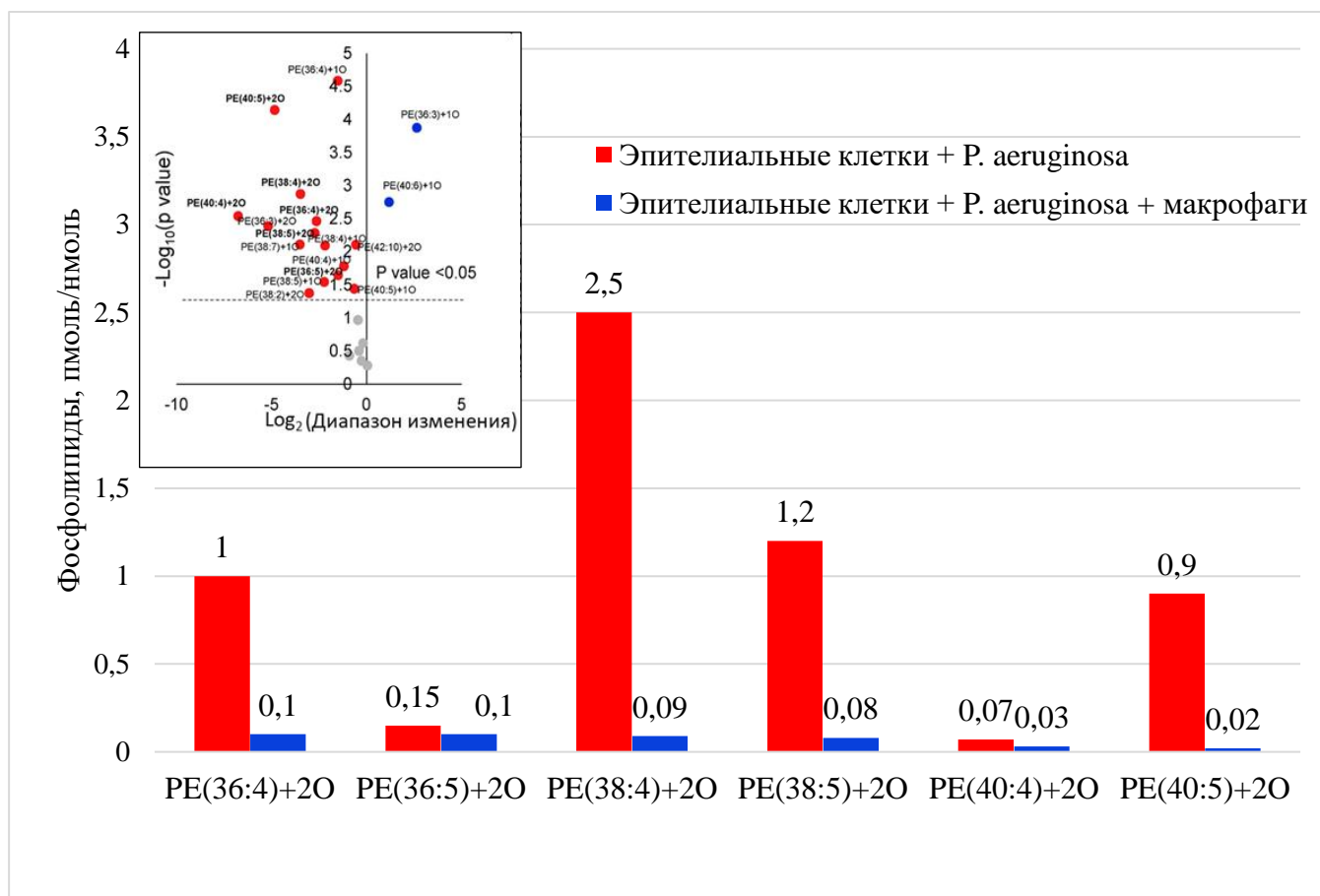


Рисунок 26 – Уровни фосфатидилэтаноламинов в образцах эпителиальных клеток, культивируемых отдельно и вместе с макрофагами [77]

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.

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

При проведении суточного мониторирования ЭКГ по Холтеру ишемические изменения на электрокардиограмме достоверно чаще наблюдались у пациентов I группы, чем во II группе (41,1% и 14,6%, $p=0,006$, Таблица 9).

Таблица 9 – 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

Уровень тропонина I был достоверно выше у пациентов с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*, чем в группе с ХСН и пневмонией, вызванной *S. aureus*. (75 и 21,6 нг/мл, $p = 0,008$) (Рисунок 27).

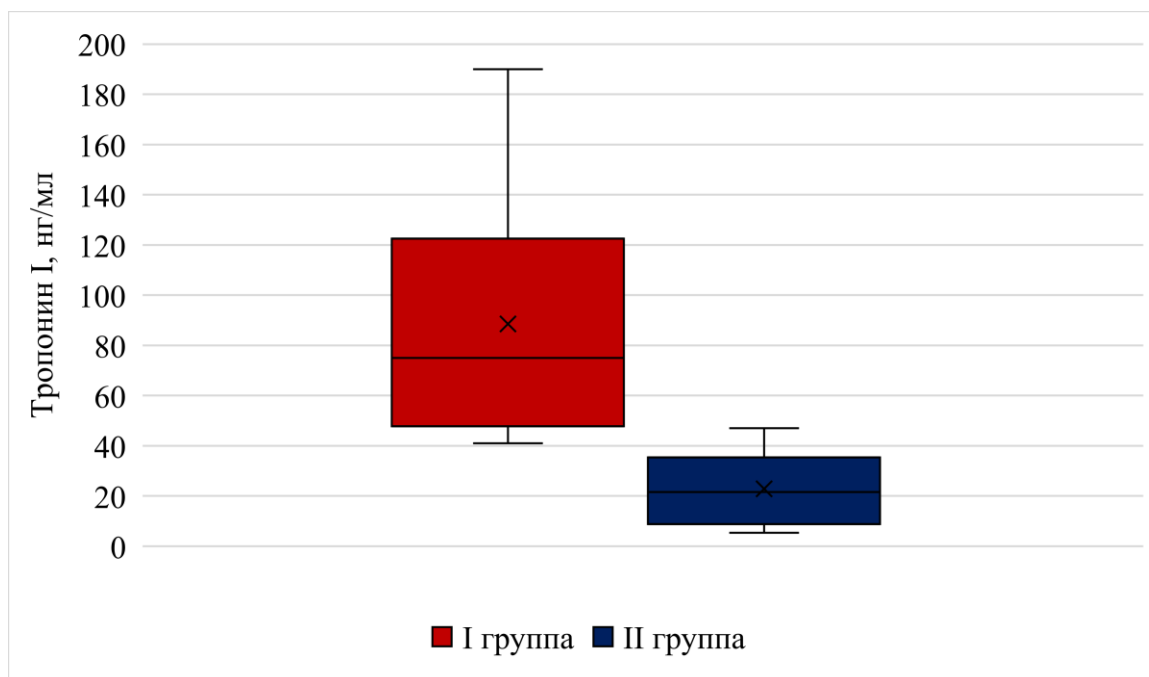


Рисунок 27 – Среднее значение тропонина I в исследуемых группах

Сердечно–сосудистые осложнения 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 10.

Таблица 10 – 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 28.

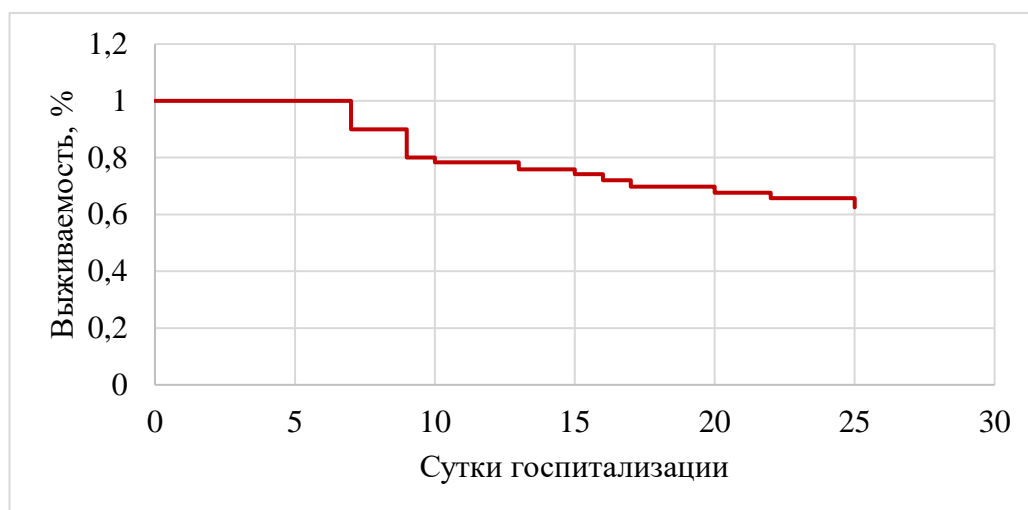
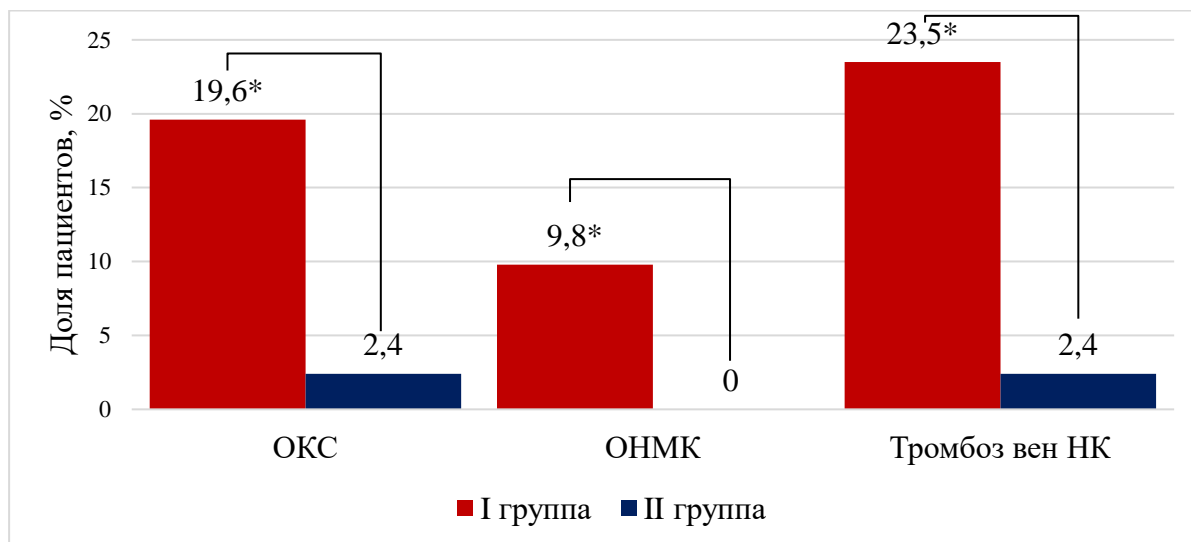


Рисунок 28 – Кривая выживаемости Каплана–Майера у пациентов с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*

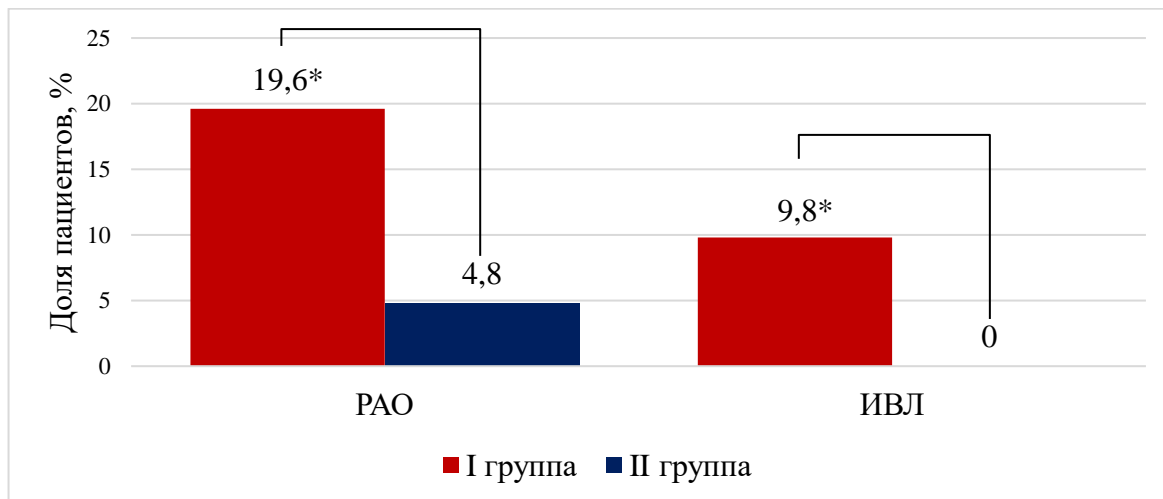
Нефатальный ОКС был диагностирован у 10 (19,6%) больных I группы и у 1 (2,4%) пациента II группы, тромбоз вен нижних у 12 (23,5%) и 1 (2,4%) больных, нефатальная ТЭЛА у 5 (9,8%) и у 4 (9,7%) пациентов соответственно. ОНМК во время госпитализации развилось у 5 (9,8%) больных с ХСН и пневмонией, обусловленной *P. aeruginosa* (Рисунок 29).



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

Рисунок 29 – Распределение пациентов I и II групп по наличию нефатальных сердечно–сосудистых осложнений

10 (19,6%) пациентов основной группы и 2 (4,8%) больных группы сравнения были переведены в отделение реанимации, ИВЛ проводилась 5 (9,8%) и 0 (0%) больным соответственно (Рисунок 30).



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

Рисунок 30 – Пребывание пациентов в отделении реанимации

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* (Таблица 11 и Рисунок 31).

Таблица 11 – Многофакторный регрессионный анализ риска развития сердечно-сосудистых осложнений при пневмонии, вызванной *P. aeruginosa*

Показатель	ОР	95% ДИ	p-value
Смерть от ССО	8,843	1,190–65,699	0,004
ОКС	8,039	1,073–60,248	0,014
Тромбоз вен НК	9,647	1,308–71,153	0,004

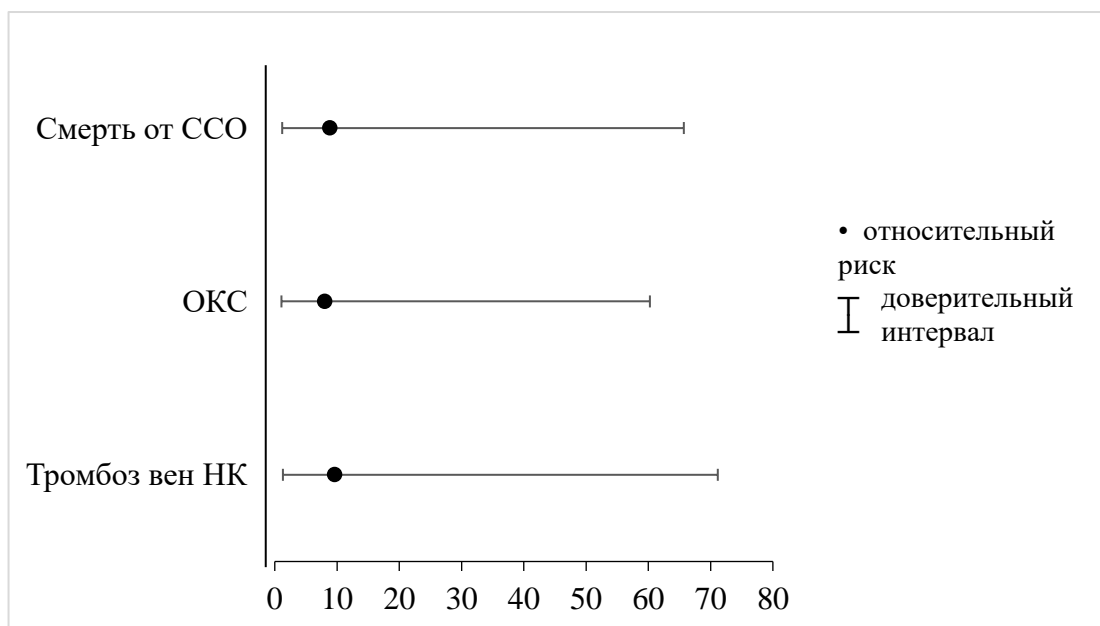


Рисунок 31 – Влияние пневмонии, вызванной *P. aeruginosa*, на развитие сердечно–сосудистых осложнений [12]

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, $p=0,004$).

3.4. 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 12).

Таблица 12 – Показатели эхокардиографии у пациентов в исследуемых группах [101]

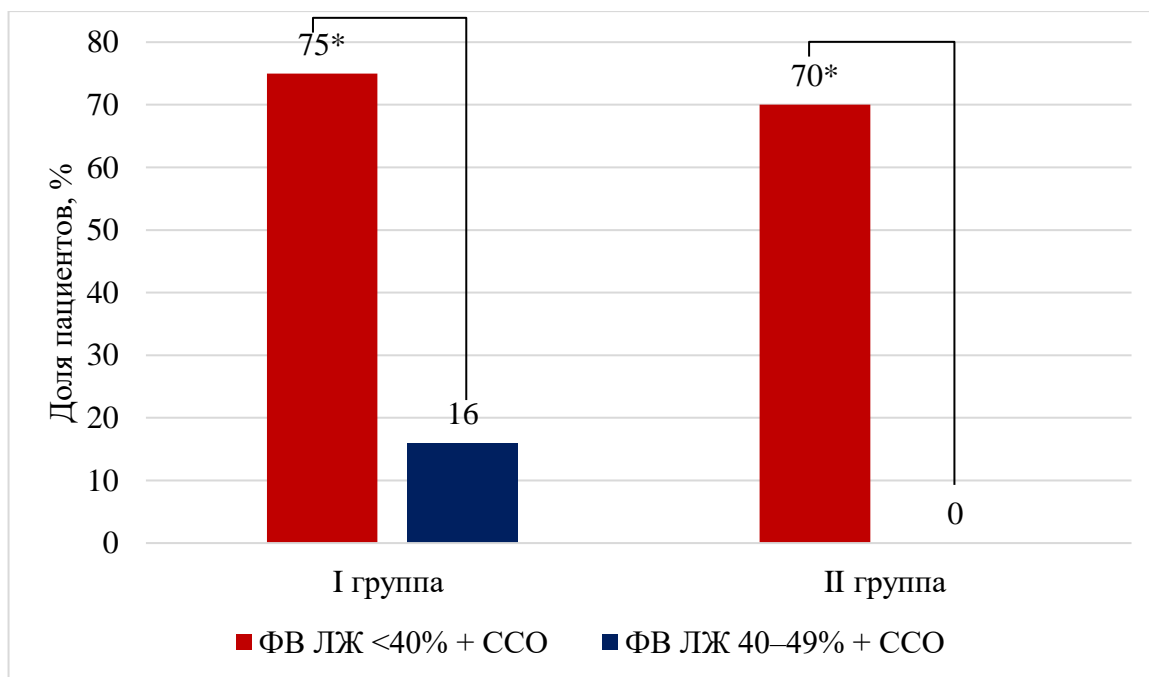
Показатель	I группа	II группа	p–value
Фракция выброса ЛЖ, %	43 [39,0; 48]	46 [40; 49]	0,283
ТМЖП, мм	10,0 [8,0; 12,0]	10,0 [8,0; 11,3]	0,918

Продолжение Таблицы 12

ТЗСЛЖ, мм	10,0 [8,0; 12,0]	10,0 [8,0; 11,0]	0,587
КДО ЛЖ, мл	117 [88,5; 156]	98 [90,5; 148]	0,635
КСО ЛЖ, мл	56,5 [33,8; 90,3]	43 [35,0; 60,0]	0,392
V ЛП, мл	66,0 [50,0; 78,3]	56 [48,0; 60,0]	0,255
СДЛА, мм рт.ст.	33,5 [28,0;40,0]	28,5 [22,0;41,0]	0,044

СДЛА у больных с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*, было достоверно выше – 33,5 [28,0;40,0] мм рт.ст., чем в группе с ХСН и пневмонией, вызванной *S. aureus* – 28,5 [22,0;41,0] ($p < 0,05$).

20 (39%) больных I группы и 10 (24,3%) пациентов II группы имели значения ФВ ЛЖ менее 40%. Развитие сердечно–сосудистых осложнений возникало достоверно чаще у больных ХСН с низким значением ФВ ЛЖ. Так, среди пациентов I группы ССО возникали у 15 (75%) больных со значением ФВ ЛЖ менее 40% и у 5 (16%) со значением ФВ ЛЖ от 40 до 49% ($p < 0,05$), что иллюстрирует рисунок 32.



Примечание: * – $p < 0,05$ при сравнении между группами с СНнФВ и СНФВ

Рисунок 32 – Развитие ССО у больных I и II группы при различных значениях ФВ ЛЖ [101]

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 33).

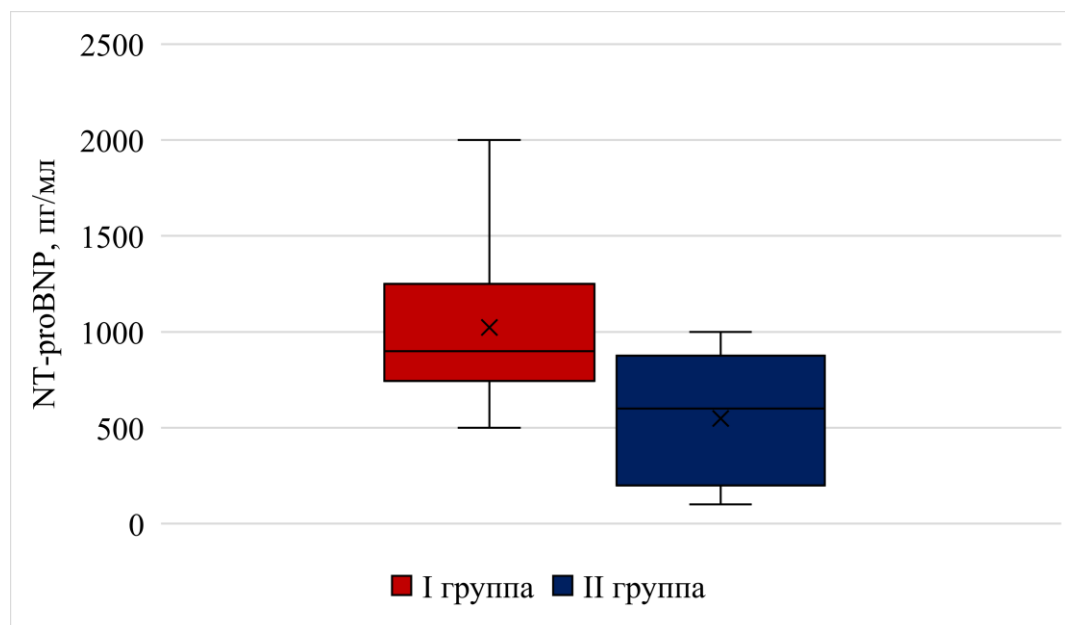


Рисунок 33 – Среднее значение мозгового натрийуретического пептида в исследуемых группах [101]

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 ($r = -0,7713$, $p = 0,000$) (Рисунок 34).

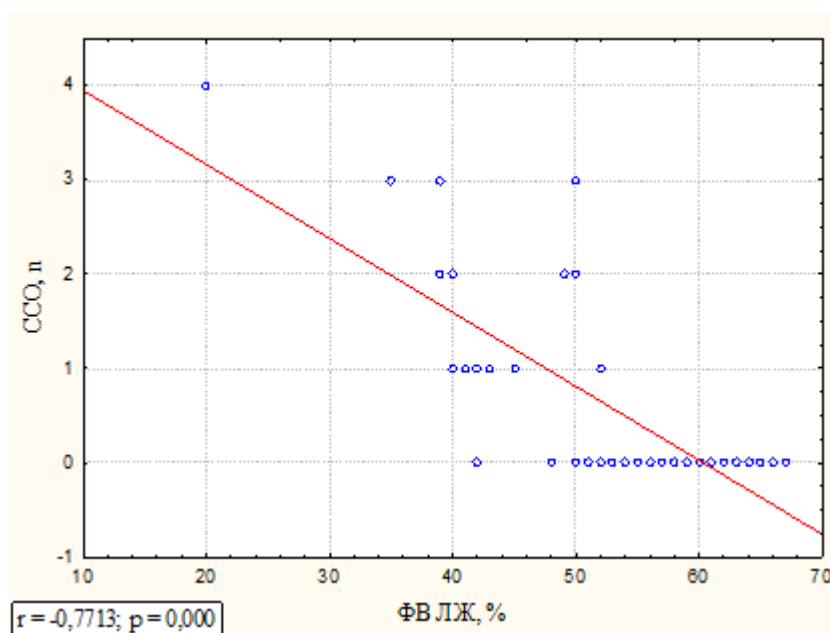
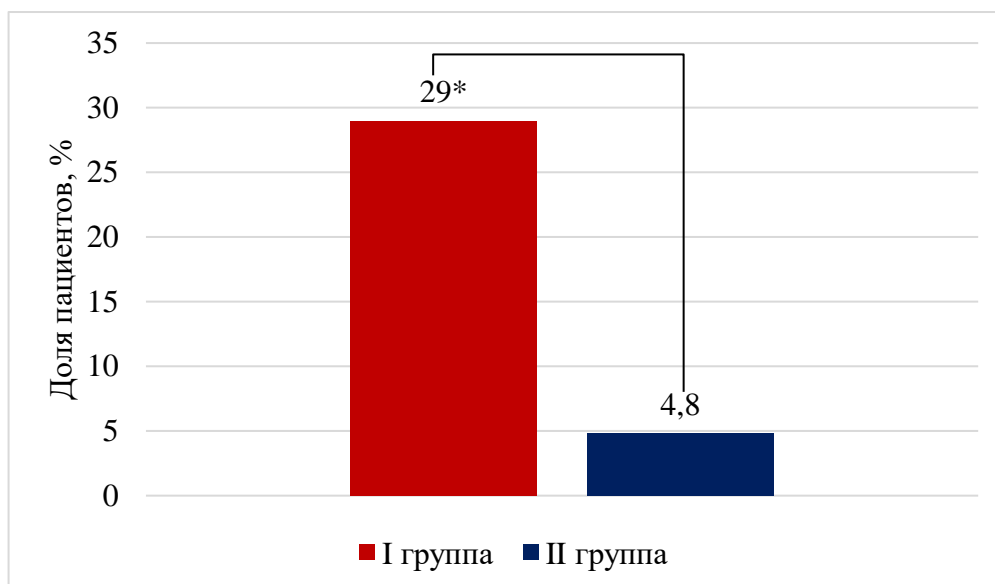


Рисунок 34 – Корреляционная зависимость между ФВ ЛЖ и количеством ССО [101]

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, $p < 0,05$).

3.5. Влияние воспаления и дыхательной недостаточности на развитие сердечно–сосудистых осложнений у больных с хронической сердечной недостаточностью и пневмонией

У больных I группы чаще диагностировался сепсис (29%) чем во II группе (4,8%) ($p=0,003$) (Рисунок 35). При диагностике сепсиса органная дисфункция была определена как увеличение количества баллов по шкале SOFA на 2 или более от исходных значений [102].



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

Рисунок 35 – 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 13).

Таблица 13 – Результаты общего анализа крови в исследуемых группах [41]

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 14).

Таблица 14 – Результаты биохимического анализа крови в исследуемых группах

Показатель	I группа	II группа	p-value
АЛТ, Ед/л	23,0 [15,5; 38,1]	22,0 [18,3; 34,5]	0,887
АСТ, Ед/л	34,5 [21,3; 62,5]	24,3 [19,0; 31,5]	0,013

Продолжение Таблицы 14

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

Уровень общего белка составил 64,8 [56,0; 72,0] г/л в I группе и был достоверно ниже, чем во II группе – 69,8 [64,1; 74,0] г/л ($p = 0,016$), (Рисунок 36).

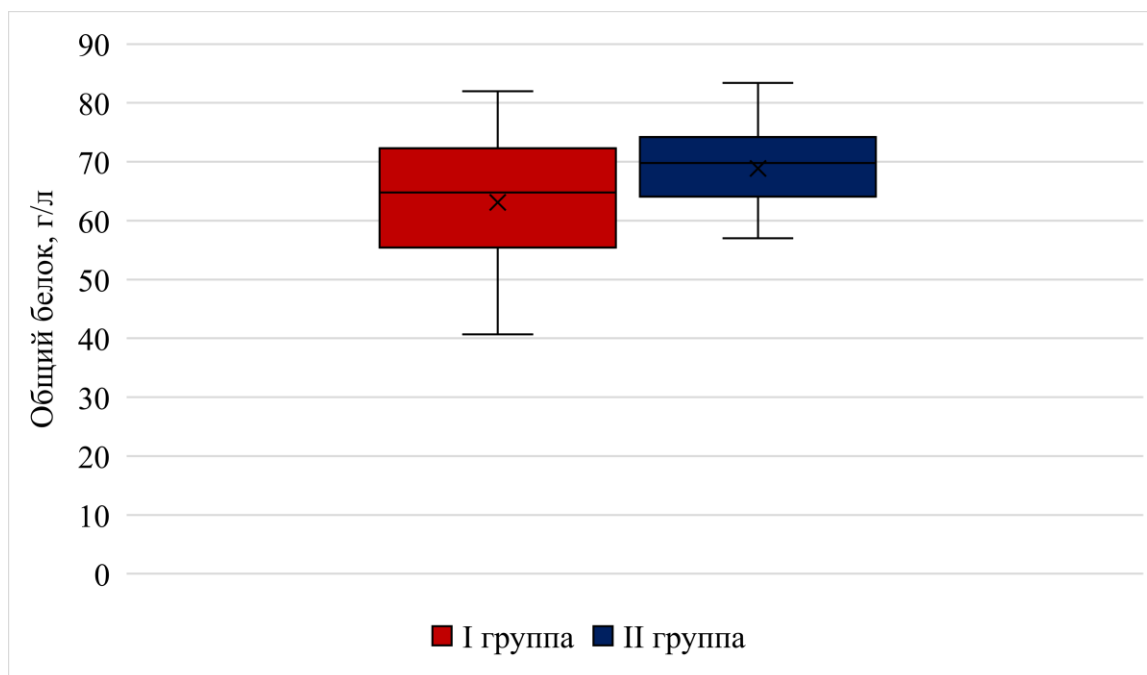


Рисунок 36 – Среднее значение общего белка в исследуемых группах

У пациентов с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*, среднее значение С-реактивного белка (С-РБ) было достоверно выше, чем в группе пациентов с ХСН с пневмонией, вызванной *S. aureus* ($p < 0,001$), (Рисунок 37).

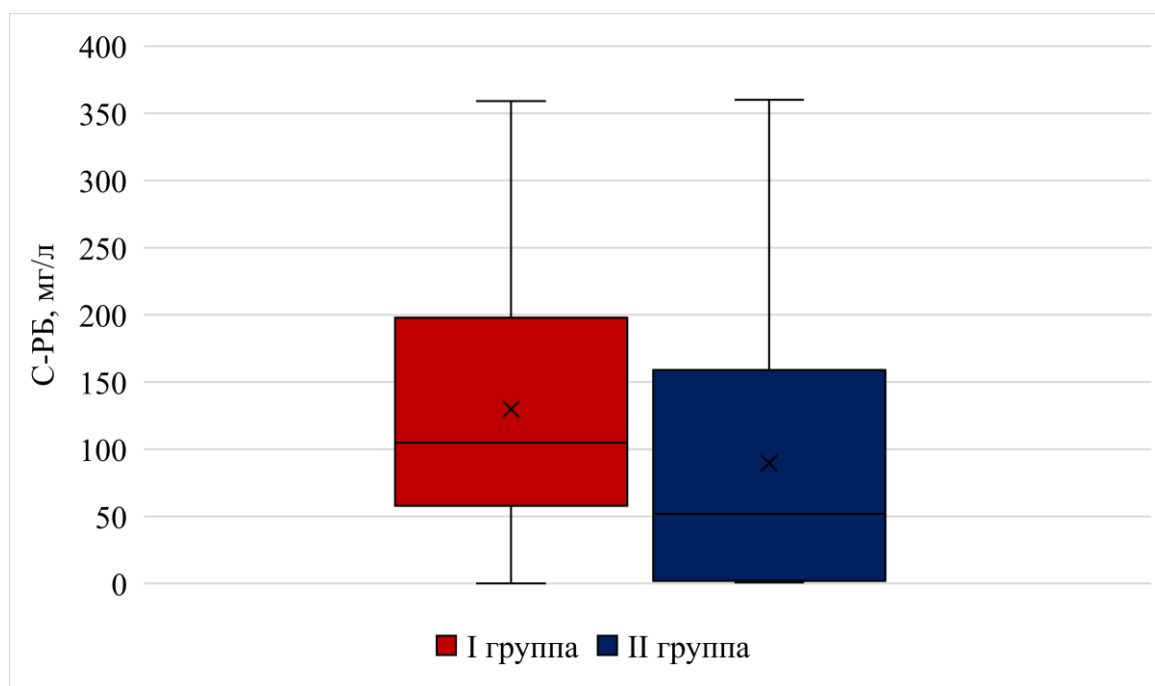


Рисунок 37 – Среднее значение С–реактивного белка в исследуемых группах

Значимое увеличение С–реактивного белка у пациентов I группы свидетельствует о выраженном воспалительном синдроме. Нами была выявлена отрицательная корреляционная зависимость умеренной силы между уровнями С–реактивного белка и общего белка ($r=-0,4708$, $p=0,011$) и уровнями С–реактивного белка и гемоглобина ($r=-0,5428$, $p=0,002$), (Рисунок 38).

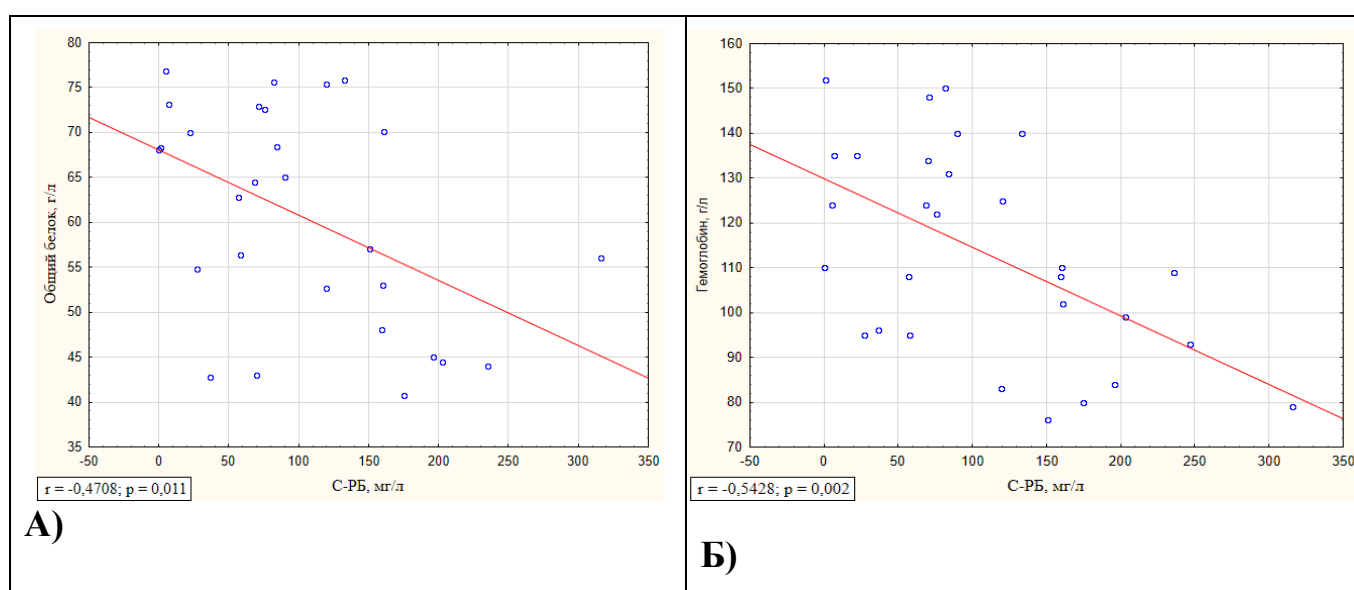


Рисунок 38 – Корреляционная зависимость между уровнями: (А) С–РБ и общего белка и (Б) С–РБ и гемоглобина у больных I группы

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 39).

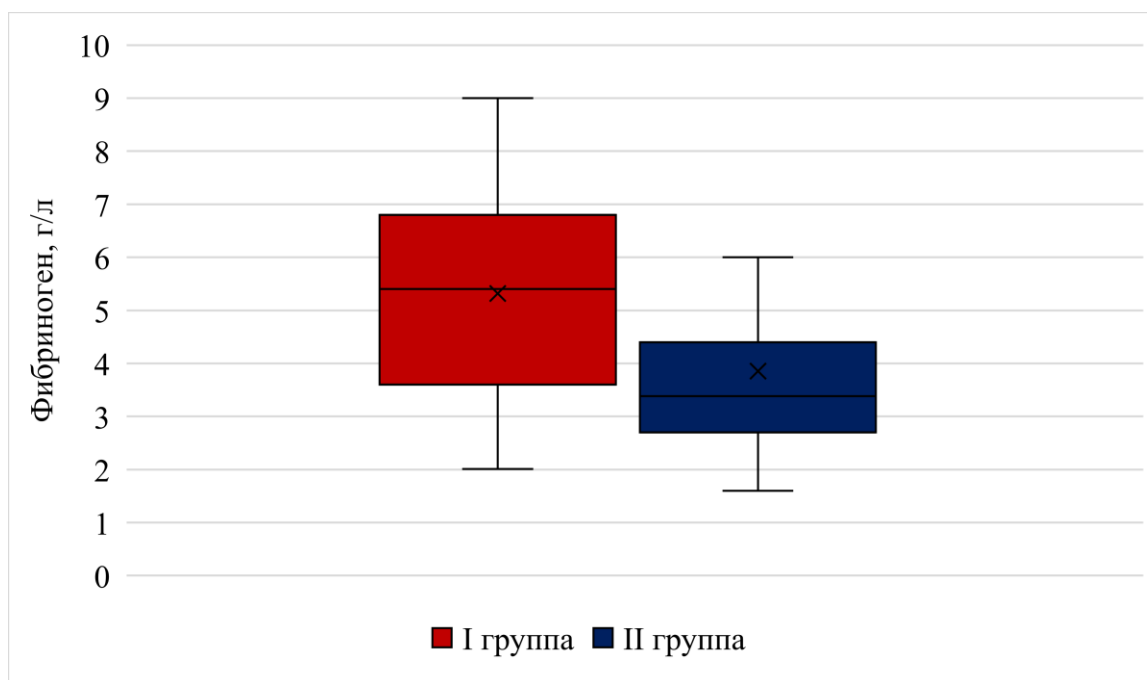
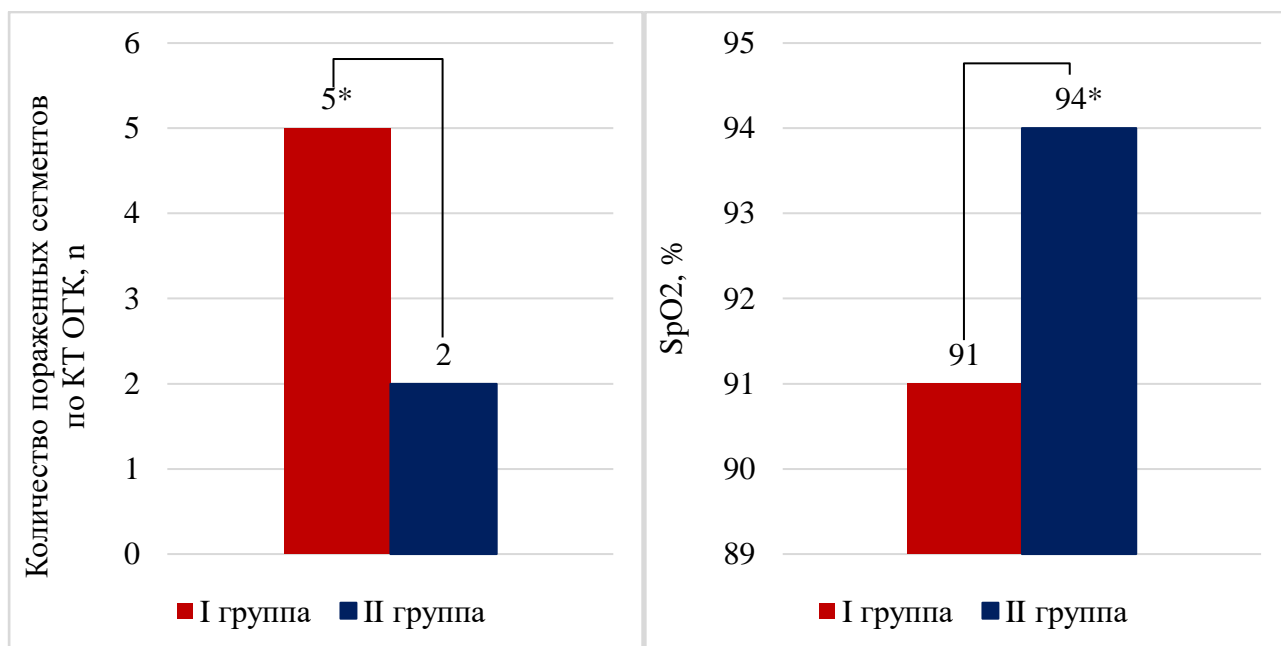


Рисунок 39 – Среднее значение фибриногена в исследуемых группах [41]

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 40).



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

Рисунок 40 – Тяжесть поражения легких в исследуемых группах [41]

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; $p < 0,001$), тромбоцитоз (ОР 3,216; ДИ 1,453–7,118; $p = 0,001$), лейкоцитоз (ОР 2,412; 95% ДИ 1,399–4,158; $p = 0,048$), 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 15).

Таблица 15 – Независимые предикторы развития ССО у пациентов с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa* [41]

Показатель	ОР	95% ДИ	p-value
Снижение гемоглобина	2,119	1,212–3,707	<0,001
Тромбоцитоз	3,216	1,453–7,118	0,001
Лейкоцитоз	2,412	1,399–4,158	0,048
Увеличение СОЭ	2,412	1,452–4,007	<0,001
Гипопроотеинемия	5,225	1,249–21,854	0,012

Продолжение Таблицы 15

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 пороговых значений лабораторных предикторов возникновения ССО у больных с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*, был выполнен ROC–анализ. Наибольшей чувствительностью и специфичностью обладали снижение гемоглобина менее 110 г/л, лейкоцитоз более $11 \times 10^9/\text{л}$, увеличение С–РБ более 133 мг/л и гипопропротеинемия менее 57 г/л.

Снижение гемоглобина менее 110 г/л с чувствительностью 92,9% и специфичностью 68,7% свидетельствовало о высоком риске развития ССО у больных с ХСН и пневмонией, обусловленной *P. aeruginosa* (Area Under Curve, AUC = 0,816) (Рисунок 41).

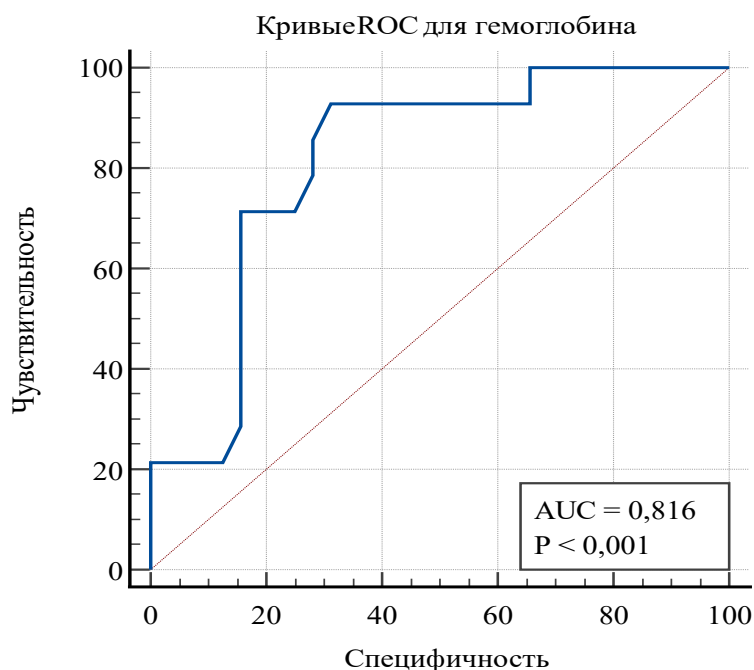


Рисунок 41 – ROC–кривая снижения гемоглобина менее 110 г/л для прогнозирования развития ССО у больных ХСН с пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*

Увеличение лейкоцитов более $11 \times 10^9/\text{л}$ достоверно повышало риск развития ССО в I группе (чувствительность 81,2%, специфичность 78,8%) (Area Under Curve, AUC = 0,784, Рисунок 42).

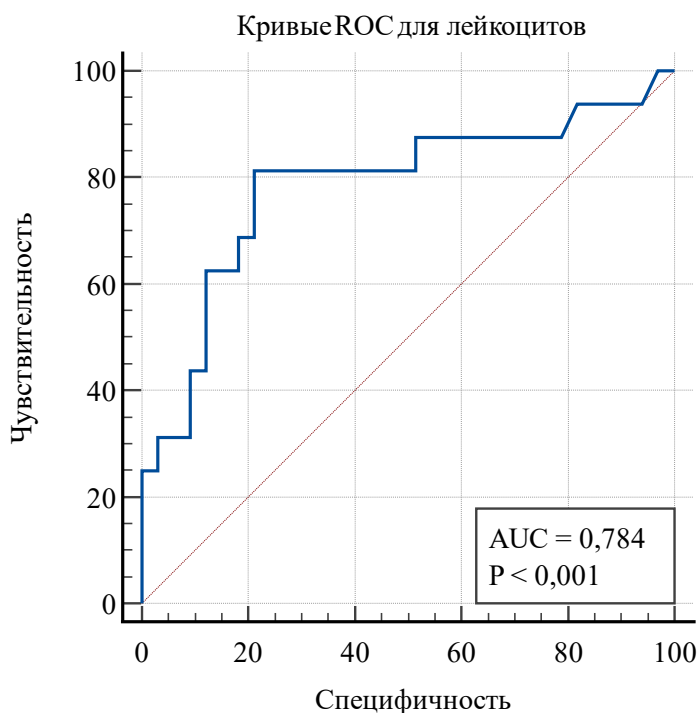


Рисунок 42 – ROC–кривая для прогнозирования развития ССО у больных ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*, при повышении лейкоцитов более $11 \times 10^9/\text{л}$ [41]

Увеличение С–реактивного белка более 133 мг/л с чувствительностью 75% и специфичностью 88,9% свидетельствует о высоком риске развития ССО у больных с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa* (Area Under Curve, AUC = 0,790, Рисунок 43).

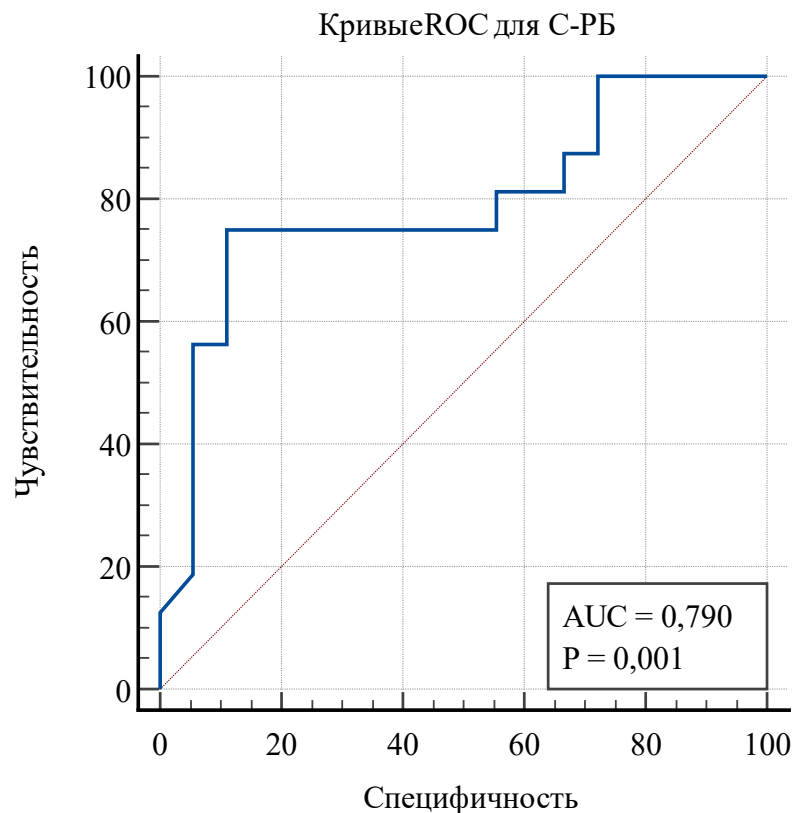


Рисунок 43 – ROC–кривая для прогнозирования развития ССО у больных ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*, при увеличении концентрации С–реактивного белка более 133 мг/л [41]

Гипопротеинемия менее 57 г/л обладает высокой диагностической ценностью для определения риска развития ССО у больных с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa* (чувствительность 92,3%, специфичность 93,7%) (Area Under Curve, AUC = 0,957, Рисунок 44).

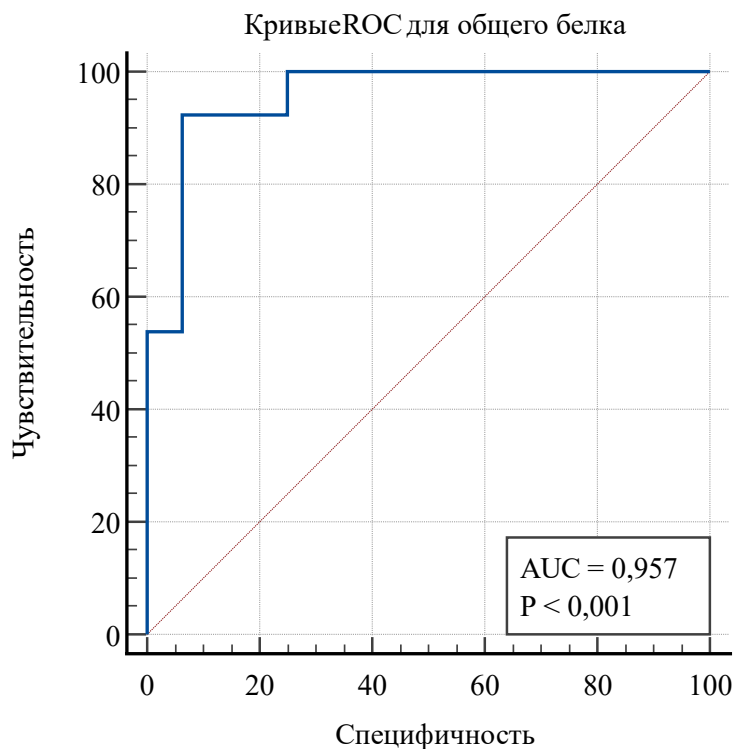


Рисунок 44 – ROC–кривая для прогнозирования развития ССО у больных ХСН с пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*, при снижении уровня общего белка плазмы крови менее 57 г/л [41]

Таким образом, наиболее значимыми лабораторными предикторами развития ССО у пациентов с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa* являются: анемия, лейкоцитоз, увеличение С–реактивного белка и гипопроteinемия.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

4.1. Механизмы ферроптотического повреждения клеток при инфекции *Pseudomonas aeruginosa*

Для изучения клеточных механизмов развития ССО у больных с ХСН и пневмонией, обусловленной *P. aeruginosa*, нами был проведен эксперимент *in vitro*. В нашем исследовании мы продемонстрировали, что добавление к клеткам бронхиального эпителия человека супернатанта *P. aeruginosa* приводит к опосредованному Lamp2a деградации ГП 4. Данные изменения способствуют избыточной активации перекисного окисления липидов в клетке и запускают ферроптоз. Во второй части исследования мы добавляли к культуре клеток ингибиторы лизосомальной деградации – NH₄Cl и CQ. Данные вещества оказывали протективный эффект, что привело к уменьшению перекисного окисления липидов, восстановлению уровня ГП 4 и снижению активности ферроптоза в клетках.

В 2019 году Wu Z. и соавт. впервые показали, что индукция ферроптоза эрастином приводит к активации шапероновой аутофагии и последующей деградации ГП 4 [103]. В работе Thayuullathil F. и соавт. (2021) было продемонстрировано, что опосредованная кислой сфингомиелиназой окислительно–восстановительная реакция способствует аутофагической деградации ГП 4, вызывает перекисное окисление липидов и ферроптоз [104].

В ряде экспериментальных работ было продемонстрировано значение ферроптоза как одного из механизма гибели кардиомиоцитов при ХСН и ИБС. Было показано, что развитие ферроптоза связано с активацией перекисного окисления липидов и окислительным стрессом, а регуляция ферроптоза может благоприятно повлиять на исход различных заболеваний (Рисунок 45) [69].

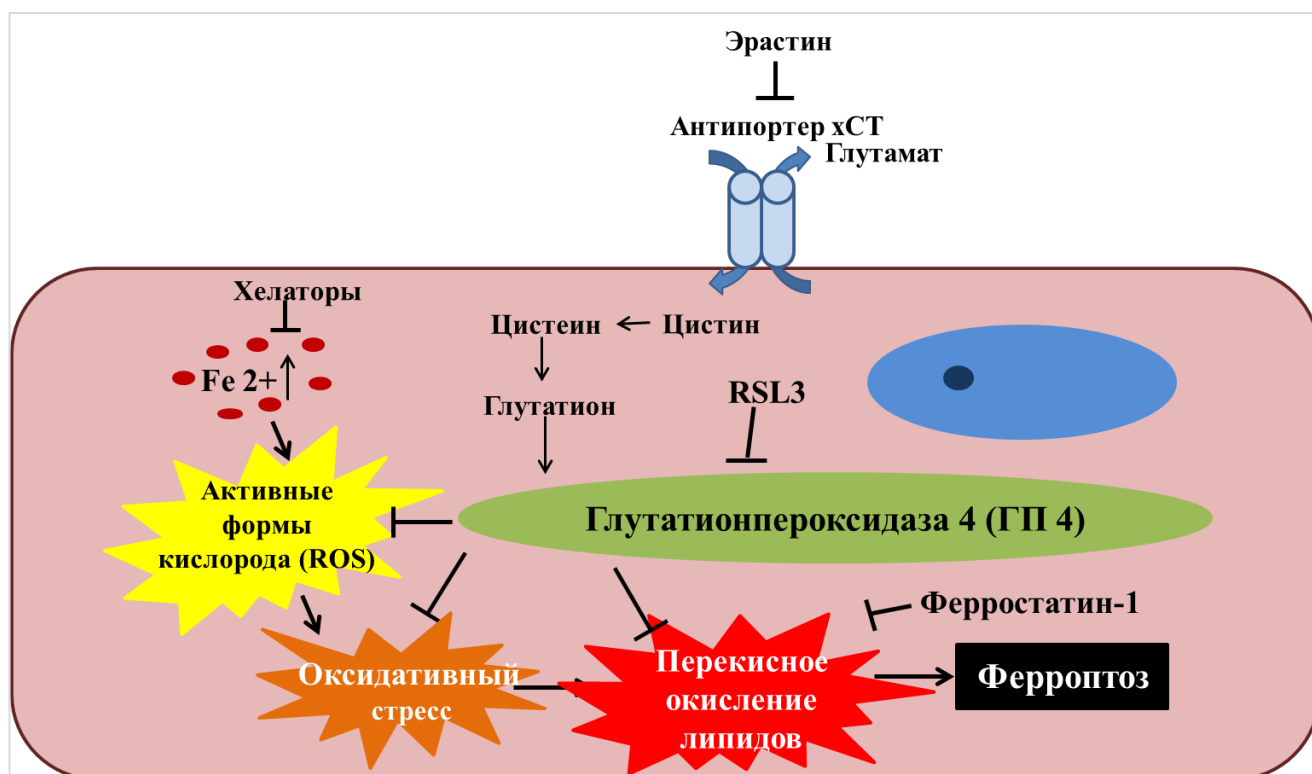


Рисунок 45 – Механизмы регуляции ферроптоза [69]

У больных с ХСН наблюдаются изменения нутритивного статуса, включающие дисбаланс железа [105, 106]. Как дефицит, так и перегрузка железа в кардиомиоцитах тесно связаны с сердечной недостаточностью. У мышей с дефицитом ферритина Н, необходимого для поддержания гомеостаза железа в миокарде, наблюдалось снижение экспрессии SLC7A11 в кардиомиоцитах, а селективная сверхэкспрессия SLC7A11 повышала уровень глутатиона и предотвращала ферроптотическую гибель кардиомиоцитов. Длительная диета с высоким содержанием жиров приводила к повышенной экспрессии miR-140-5p макрофагами жировой ткани, которая может подавлять синтез глутатиона и стимулировать ферроптоз в кардиомиоцитах путем ингибирования SLC7A11 [107].

В экспериментальной работе Fang X. и соавт. (2019) было показано, что индуктор ферроптоза доксорубин вызывает кардиомиопатию у мышей, а применение ферростатина-1 увеличивало выживаемость мышей, получивших доксорубин. Данное исследование впервые доказало значение ферроптоза в гибели кардиомиоцитов. Авторы отметили, что гемоксигеназа-1 является

основной причиной высвобождения железа при DOX–индуцированном повреждении миокарда [7].

В исследовании Bai Y.T. и соавт. (2018) было показано, что эрастин является индуктором ферроптоза в кардиомиоцитах, а аутоотоксин также известный как эктонуклеотидпирофосфатаза/фосфодиэстераза 2 (ENPP2), участвующий в образовании лизофосфатидной кислоты, обладают протективными свойствами, уменьшая образование активных форм кислорода и ферроптоза [108].

Согласно современным клиническим рекомендациям по диагностике и лечению ХСН препараты из группы ингибиторов натрий–глюкозного котранспортера 2–го типа относятся к I классу доказательности в лечении всех трех фенотипов ХСН [18, 109]. Недавние исследования показали, что препараты из данной группы уменьшают активность ферроптоза и устраняют симптомы сердечной недостаточности. В исследовании Ma S. и соавт. (2022) было показано, что канаглифлозин ингибирует ферроптоз и улучшает течение СНсФВ, снижая активность белков, ассоциированных с ферроптозом [110]. Канаглифлозин также снижал окислительный стресс и активность ферроптоза посредством регуляции гомеостаза железа в сердце и стимуляции системы Хс–, увеличении глутатиона, ГП 4 у мышей с диабетической кардиомиопатией [111]. Другой препарат данной группы – дапаглифлозин, уменьшал реперфузионное повреждение миокарда, ингибируя ферроптоз и увеличивая экспрессию SLC7A11 и ГП 4 [112].

Новые генетические исследования подтверждают роль ферроптоза в развитии ХСН. Xiong Y. и соавт. (2024) идентифицировали 11 функционально–активных дифференциально экспрессирующихся генов, связанных с ферроптозом, которые могут стать в дальнейшем потенциальными мишенями в лечении ХСН [113].

В некоторых исследованиях была изучена роль ферроптоза при атеросклерозе и ИБС. В исследовании Guo Z. и соавт. (2008) было показано, что сверхэкспрессия ГП 4, снижает чувствительность эндотелиальных клеток к окисленным липидам и замедляет прогрессирование атеросклероза [114]. Wu X. и соавт. (2022) выявили семь генов: CA9, CBS, CEVPG, HSPB1, SLC1A4, STMN1 и

TRIB3, экспрессия которых приводила к раннему развитию ферроптоза эндотелиальных клеток и ИБС [115].

Ферроптотическая гибель клеток была отмечена и при инфаркте миокарда. В исследовании Park T.J. и соавт. (2019) проводили протеомный анализ ткани сердца мышей после вызванного в эксперименте инфаркта миокарда. Результаты протеомного анализа показали значительное снижение ГП 4 при развитии инфаркта миокарда, что повышало чувствительность кардиомиоцитов к ферроптозу [116].

В исследовании Miao S. и соавт. (2023) было установлено, что при инфаркте миокарда гибель кардиомиоцитов может быть опосредована путем прямого взаимодействия с тромбоцитами, которые внедряются в ткань миокарда и доставляют в кардиомиоциты микроРНК miR-223-3p. Присутствие miR-223-3p приводило к снижению уровня фосфатидилхолина – ключевого фермента в биосинтезе липидов и деградации жирных кислот. Такое изменение состава фосфолипидов способствовало возникновению ферроптоза в кардиомиоцитах [117]. В исследовании Huang D. и соавт. (2022) были идентифицированы 11 генов, ассоциированных с ферроптозом и повышающие предрасположенность пациента к возникновению ИБС [118].

В некоторых работах была показана роль ферроптоза в развитии тромбоза. Ma H. и соавт. (2022) в эксперименте создали модель травматического повреждения вен крыс для активации тромбообразования. Введение липроксстатина-1, ингибитора ферроптоза, до травмы не влияло на скорость тромбообразования, но влияло на прогрессирование тромбоза глубоких вен конечностей, о чем свидетельствовало уменьшение размера тромба и снижение гиперкоагуляции [119].

Механизмы, лежащие в основе развития аритмии при ферроптозе, остаются не до конца изученными. Предыдущие исследования показали, что у крыс с хронической перегрузкой железом могут возникать различные нарушения сердечного ритма и проводимости. Повышенная продукция АФК, вызванная перегрузкой железом, приводит к нарушению работы митохондрий и изменению

мембранного потенциала, что может быть одной из основных причин развития аритмии.

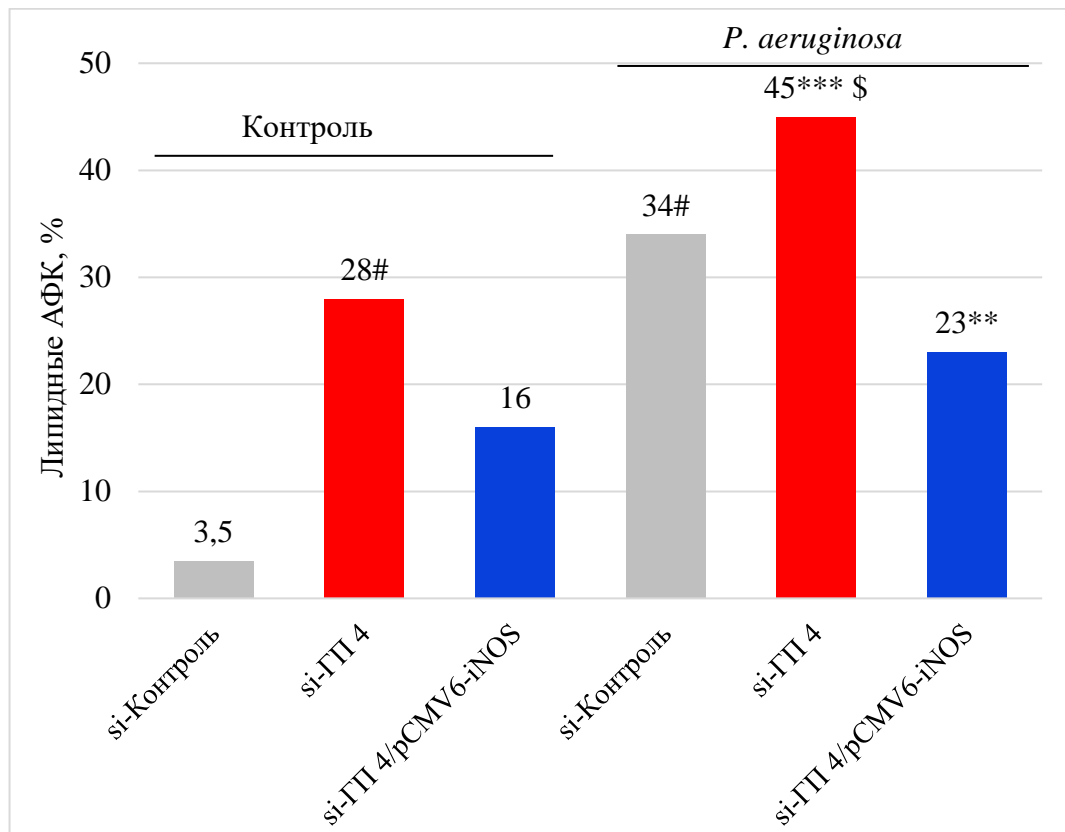
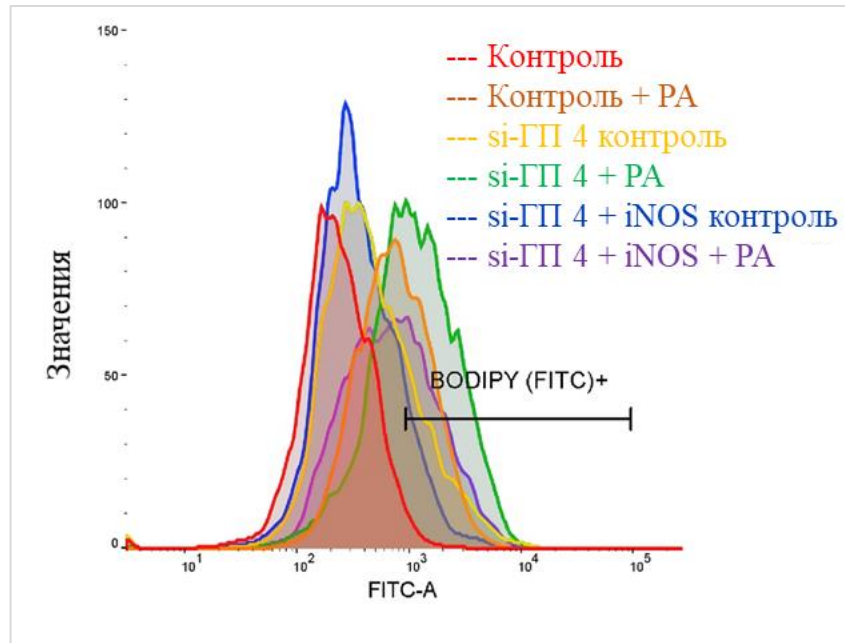
В работе Bai Y.T. и соавт. (2018) было показано, что активировать ферроптоз и повышать вероятность возникновения ФП может чрезмерное употребление алкоголя [108]. Fang J. и соавт. (2021) обнаружили, что в миокарде предсердий крыс при сепсисе значительно снижена экспрессия ферропортина, единственного известного белка–экспортера клеточного железа. Снижение экспрессии ферропортина значительно повышало концентрацию внутриклеточного железа, но было обратимо при применении ингибиторов ферроптоза [120].

В экспериментальной части работы был впервые обнаружен новый ингибитор ферроптоза, оксид азота, действующий независимо от присутствия ГП 4.

Оксид азота – это высокореактивный газообразный медиатор с антиокислительными свойствами, который ингибирует реакции перекисного окисления липидов. Оксид азота взаимодействует с активными формами кислорода и преобразуется в активные формы оксида азота, которые могут необратимо модифицировать ДНК, белки, липиды и другие биомолекулы. Оксид азота имеет антагонистические свойства и выступает как в качестве проокислителя, так и антиоксиданта. В связи с участием оксида азота в образовании сильного окислителя пероксинитрита, вызывающего повреждение клеточных структур путем окислительной модификации ДНК, липидов и белков, NO часто рассматривается в качестве токсичного вещества. При этом, созданные экспериментальные модели показали, что NO уменьшает окислительное повреждение. Например, NO ингибирует перекисное окисление липидов в мембранах липопротеинов низкой плотности и липосом. Также было показано, что NO образует нитрозосоединение с железом за счет чего ингибирует реакцию между пероксидом и ионом металла, тем самым предотвращая выработку активных форм кислорода [121]. Источником оксида азота в организме служит синтаза оксида азота (NOS). NO вырабатывается посредством шестиэлектронного восстановления азота в гуанидиновой группе аргинина. В организме млекопитающих были

обнаружены три изоформы NOS, а именно нейрональная форма (NOS1 или nNOS), индуцибельная форма (NOS2 или iNOS) и эндотелиальная форма (NOS3 или eNOS) [122].

В исследовании Нотта Т. и соавт. (2021) было показано, что длительно действующий донор NO NOC18 эффективно ингибирует ферроптоз в культурах клеток с дефицитом цистина, ГП 4 и ингибированной системой Хс-. NO не смог предотвратить снижение клеточного уровня цистина или глутатиона, но подавлял ферроптоз в условиях их недостатка. В данном исследовании уровень ГП 4 был частично восстановлен при добавлении NOC18, что не согласуется с результатами нашего эксперимента. Хотя уровень ГП 4 был частично восстановлен при добавлении NOC18, донор NO не смог снизить уровень липидных гидропероксидов, в отличие от результатов нашего исследования, в котором наблюдалось снижение липидных гидропероксидов при экспрессии NO (Рисунок 46). Это было объяснено авторами как одновременное присутствие пероксинитрита или других свободных радикалов. Как и в нашей работе, данные результаты указывают на то, что действие NO отличается от механизма действия цистина/глутатиона/ГП 4 [121].



Примечание: # – $p < 0,0001$ по сравнению с si-Контроль/Контроль; \$ – $p < 0,0001$ по сравнению с si-Контроль/*P. aeruginosa*; *** – $p < 0,0001$ по сравнению с si-ГП 4/Контроль; ** – $p < 0,001$ по сравнению с si-ГП 4/*P. aeruginosa*

Рисунок 46 – Активность перекисного окисления липидов в эпителиальных клетках после добавления *P. aeruginosa* без ГП 4 с и без экспрессии iNOS [77]

Будучи основным антиферроптотическим ферментом, ГП 4 удаляет LOOH (липидный гидропероксид), тем самым подавляя образование радикалов липидов

($\text{LOO}\bullet$) и предотвращая окислительный стресс. NO вступает в реакцию с $\text{LOO}\bullet$ и образует стабильные азотсодержащие продукты, LONO и LOONO , и завершает цепную реакцию липидных радикалов [123]. Соответственно, антиоксидантное действие NO может, по крайней мере частично, объясняться прекращением радикальной цепной реакции.

В нашем исследовании также была продемонстрирована способность оксида азота ингибировать *P. aeruginosa* – ассоциированное ферроптотическое повреждение бронхиального эпителия, вызванное бактериальном штаммом, активно образующим биопленку. Наши результаты показывают новый механизм антибактериального действия оксида азота (Рисунок 47).

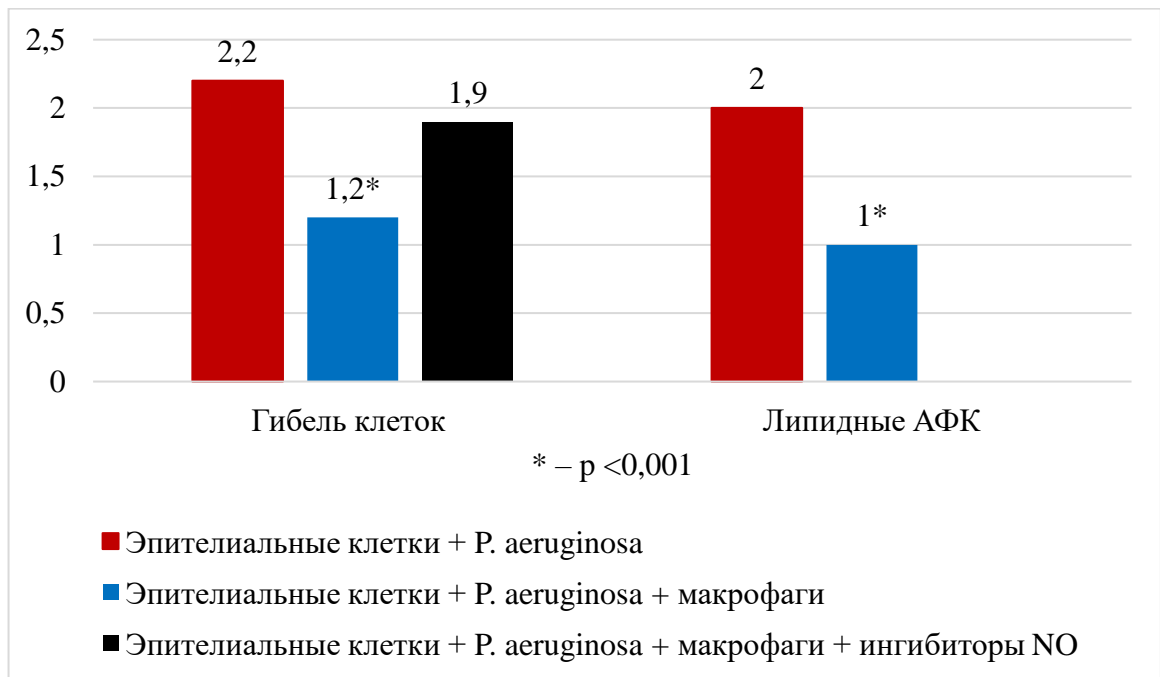


Рисунок 47 – Динамика активности ферроптоза в клетках бронхиального эпителия при совместном культивировании с макрофагами

Одним из ключевых процессов жизнедеятельности *P. aeruginosa* является денитрификация, которая позволяет переходить на анаэробное дыхание. Например, микросреда легких при муковисцидозе, включающая статическую слизь, считается гипоксической или анаэробной. Мокрота при муковисцидозе содержит от 73 до 792 микромоляр нитрата, который *P. aeruginosa* использует для роста посредством последовательного восьмиэлектронного восстановления NO_3^- до N_2 , процесса,

известного как денитрификация. Переход *P. aeruginosa* к анаэробному образу жизни сопровождается рядом ключевых физиологических изменений. К ним относятся повышенное образование биопленок, медленный рост и радикальная модификация структуры и функции липополисахаридной внешней мембраны. Эти изменения придают *P. aeruginosa* повышенную устойчивость как к иммунной защите хозяина, так и к ряду антибиотиков, обычно используемых для лечения инфекции [124]. По этой причине эффективность нескольких бактерицидных антибиотиков, таких как ципрофлоксацин, повышается за счет стимуляции аэробного дыхания, например, с помощью гипербарической оксигенации [125].

Денитрификация является центральным процессом *P. aeruginosa* по еще одной важной причине. Было установлено, что оксид азота один из ключевых сигналов, которые приводят к рассеиванию биопленки *P. aeruginosa*. Эти рассеянные клетки покидают биопленку и колонизируют новые места, способствуя острой вирулентности и хронической персистенции. Но у данного процесса есть и обратная сторона, так как рассеянные клетки лишены защиты роста, которую они имеют, находясь в биопленке, следовательно, клетки становятся существенно более чувствительны к антибиотикам [124].

Возможность использовать оксид азота для элиминации биопленки *P. aeruginosa* известна достаточно давно. В 2006 году Barraud N. и соавт. сообщили о рассеивании биопленки *P. aeruginosa* под воздействием низких, сублетальных концентраций (от 25 до 500 наномоль) донора NO нитропруссид натрия. При этом воздействие нитропруссид натрия (500 наномоль) вызывало переход от биопленочного к планктонному росту и значительно повышало эффективность антибактериальных соединений (тобрамицина, перекиси водорода и додецилсульфата натрия) при удалении устоявшихся биопленок *P. aeruginosa* со стеклянной поверхности [126].

Способность оксида азота реагировать с кислородом или супероксидом и индуцировать окислительный и нитрозативный стресс приводит к воздействию на всю бактерию, дезактивации основных ферментов, разрушению бактериальной мембраны, повреждению ДНК и системы репарации ДНК. Таким образом,

бактерии не смогут успешно мутировать или адаптироваться, чтобы выжить в различных средах обитания. В исследовании Estes Bright L.M. и соавт. (2024) клинический штамм *P. aeruginosa*, показал более высокую восприимчивость к NO, и был полностью уничтожен при концентрации 12,5 миллимоль донора NO, в то время как лабораторный штамм не показал полного уничтожения до 15 миллимоль. При этом все штаммы продемонстрировали снижение целостности бактериальной мембраны при концентрациях 10 и 12,5 миллимоль донора NO, что делает бактерии более уязвимыми при последующем добавлении NO или других антибактериальных веществ [127].

Пока оксид азота в основном изучается в контексте лечения вирусной пневмонии [128, 129]. Но в нашей стране уже опубликовано пилотное исследование Царевой Н.А. и соавт. (2024) по изучению влияния ингаляционной терапии высокими дозами оксида азота на течение внебольничной пневмонии. У пациентов, получавших ингаляции NO в качестве дополнения к стандартной терапии, наблюдалось существенное улучшение клинических симптомов, начиная с 3–го дня терапии, и лучшие показатели оксигенации на 7–й день. Также отмечено более значимое снижение уровня С-реактивного белка на 5–й и 7–й дни терапии, уровня лейкоцитов на 5–й день и укорочение длительности госпитализации. Побочные эффекты от ингаляций не наблюдались [130].

4.2. Сердечно–сосудистые осложнения у пациентов с хронической сердечной недостаточностью и пневмонией, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*

Хроническая сердечная недостаточность является одним из самых распространенных заболеваний в мире. По данным отечественного популяционного исследования ЭПОХА–ХСН (ЭПидемиологическое Обследование больных ХСН в реальной практике) не менее 8,5% населения европейской части Российской Федерации страдает ХСН, а доля ХСН III–IV ФК с 1998г увеличилась с 1,8 до 3,1% [131]. Причиной госпитализации в

кардиологическое отделение почти у каждого второго больного является декомпенсация ХСН [12].

Несмотря на достижения в разработке новых методов диагностики и лечения, внедрения вакцинопрофилактики, заболеваемость пневмонией у больных с ХСН и ассоциированная с ней смертность остаются очень высокими. Процент летального исхода составляет 3% в первые сутки госпитализации, 23% – через 30 дней пребывания в стационаре и 31% через 1 год после выписки [132]. Наиболее частой причиной смерти пациентов данной группы становятся ССО [12, 133].

Наиболее плохой прогноз имеют пациенты с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*, распространенность которой составляет 7,1–7,3% в общетерапевтических стационарах и достигает 23% в отделениях интенсивной терапии. Способность быстро адаптироваться позволяет *P. aeruginosa* вызывать широкий спектр инфекций у пациентов с тяжелыми сопутствующими заболеваниями и быть основной причиной внутрибольничных инфекций в мире. Серьезную проблему представляют штаммы *P. aeruginosa* с множественной лекарственной устойчивостью. По данным Reynolds D. и соавт. (2021) среди изолятов *P. aeruginosa*, полученных от пациентов отделения интенсивной терапии к карбапенемам были устойчивы 26,3%, к цефалоспорином широкого спектра действия – 26,5%, к фторхинолонам – 27,1%, устойчивость к 3 и более антибактериальным препаратам была выявлена у 18,6% [134].

В нашем исследовании было показано, что у пациентов с ХСН и пневмонией, обусловленной *P. aeruginosa*, значительно увеличивается риск развития жизнеугрожающих сердечно–сосудистых осложнений и летального исхода. Высокая летальность пациентов данной группы была взаимосвязана со снижением сократительной функции миокарда и высокой активностью воспаления.

У пациентов с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*, мы достоверно чаще наблюдали тромбозы вен нижних конечностей, чем в группе сравнения – 23,5% и 2,4% пациентов соответственно. Механизм образования тромбозов вен нижних конечностей у данной категории больных был обусловлен развитием тяжелых изменений дисфункции эндотелия вследствие ХСН и воспаления.

В настоящее время имеется небольшое число работ, в которых показана значимость инфекции *P. aeruginosa* в развитии сердечно–сосудистых осложнений у пациентов с тяжелой ХСН. В систематическом обзоре Violi F. и соавт. (2014) представлено 4 популяционных обсервационных исследования, включавшее несколько тысяч больных. Авторы показали статистически значимую взаимосвязь между перенесенной пневмонией и сопутствующим развитием тромбоза глубоких вен нижних конечностей, однако в данной работе не проводился анализ ССО у пациентов с ХСН [135].

В исследовании Zhang Y. и соавт. (2020) было показано, что пожилой возраст, сердечно–сосудистые заболевания, сахарный диабет и хронические заболевания легких являются факторами риска развития летального исхода у пациентов с бактериемией *P. aeruginosa*. При проведении многофакторного анализа было установлено, что наличие ХСН увеличивало риск развития летального исхода в 3,978 раза [136].

Большой вклад в развитие летального исхода и нефатальных ССО у пациентов с ХСН вносит систолическая дисфункция миокарда. Одним из наиболее значимых предикторов развития ССО в нашем исследовании было снижение ФВ ЛЖ менее 40%.

В исследовании Shen L. и соавт. (2021) было показано, что возникновение пневмонии у пациентов с ХСН со сниженной ФВ ЛЖ (PARADIGM–HF) было ассоциировано с 5–ти кратным увеличением риска смерти от любых причин, смерти от ССО и госпитализации по причине декомпенсации ХСН. При этом частота развития летального исхода составила 7,4 на 100 пациенто–лет у больных с ХСН без пневмонии и 39,5 –у больных с ХСН с пневмонией (ОР: 4,34; 95% ДИ: 3,73–5,05). В то же время у пациентов с ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ (PARAGON–HF) аналогичный показатель составил 4,2 и 21,2 (ОР: 3,76; 95% ДИ: 3,09–4,58), что указывает на меньшее количество случаев заболевания пневмонией у пациентов с сохраненной ФВ ЛЖ [2].

В проспективном обсервационном исследовании Drozd M. и соавт. (2020), включавшем 711 пациентов с ХСН со сниженной ФВ ЛЖ, было

продемонстрировало, что причиной первичной госпитализации у 25% пациентов стала респираторная инфекция [137]. Авторы доказали, что больные с ХСН со сниженной ФВ ЛЖ более подвержены респираторным инфекциям, чем пациенты с сохраненной ФВ ЛЖ. Наличие застойных явлений в малом круге кровообращения способствует более быстрому развитию пневмонии, имеет большую степень поражения легочной ткани и протекает с тяжелой дыхательной недостаточностью.

Хроническая сердечная недостаточностью предрасполагает к развитию тяжелой пневмонии по нескольким причинам. Во-первых, диффузное наполнение альвеол может мешать нормальным физиологическим механизмам, действующим в жидкости альвеолярной выстилки на границе обмена воздухом и легочной тканью (включая эффективные опсоины и макрофаги), тем самым затрудняя микробный клиренс и увеличивая риск бактериальной инфекции. Кроме того, пневмония может вызвать или усугубить сердечную недостаточность и кардиогенный отек легких, поскольку сердечный выброс не соответствует потребностям во время инфекции, что увеличивает риск госпитализации с пневмонией [26].

Большой вклад в развитие ССО у пациентов I группы оказывал тяжелый воспалительный синдром. В нашем исследовании было показано, что лейкоцитоз, увеличение С-реактивного белка и СОЭ были значимыми предикторами развития ССО у пациентов с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*. При этом наибольшей чувствительностью и специфичностью обладали лейкоцитоз и увеличение уровня С-реактивного белка.

Известно, что инфекция *P. aeruginosa* способна вызывать системный воспалительный ответ, инициирующий экспрессию патоген-ассоциированных молекулярных фрагментов (PAMPs) и молекулярных фрагментов, ассоциированных с повреждениями (DAMPs) сосудистого русла. Циркулирующие эндотоксины и другие патогенные молекулы (PAMPs/DAMPs) способны активировать тромбоциты, приводя к прокоагулянтному состоянию [41, 138].

В исследовании Kumar N. и соавт. (2023) было показано, что при инфекции *P. aeruginosa* увеличивается инфильтрация миокарда клетками иммунной системы и повышается уровень S100A8/A9 (кальпротектина) в крови. Избыточная

выработка S100A8/A9 активирует иммунные реакции, что приводит к тяжелым сердечно–сосудистым осложнениям.

Среди возможных механизмов развития ССО при инфекции *P. aeruginosa* активно обсуждается: высвобождение воспалительных цитокинов CCL2, ФНО– α , ИЛ–6 и S100A8/A9, факторов комплемента и образование активных форм кислорода. Было показано, что *P. aeruginosa*, активируя окислительный стресс, усиливает апоптоз альвеолярных макрофагов и способна полностью уничтожить популяцию макрофагов CD11c+ [139].

В исследовании Vajaj N.S. и соавт. (2020) был проведен анализ риска развития сердечно–сосудистой смерти, госпитализации по причине декомпенсации ХСН, нефатального инсульта или инфаркта миокарда в зависимости от наличия лейкоцитоза. При анализе конечных точек было показано, что пациенты с лейкоцитозом на 36% чаще умирали от сердечно–сосудистых причин, чаще госпитализировались по поводу ХСН и страдали нефатальным инфарктом миокарда, чем пациенты с нормальным уровнем лейкоцитов [140].

В систематическом обзоре Liu C. и соавт. (2023) было доказано, что более высокая концентрация С–реактивного белка связана с повышенным риском ССО. По мнению авторов С–реактивный белок может быть использован как надежный биомаркер для оценки риска ССО при инфекционных заболеваниях [141].

При исследовании других лабораторных показателей нами было обнаружено достоверное увеличение тромбоцитов и фибриногена у пациентов с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*, по сравнению с больными с ХСН и пневмонией, вызванной *S. aureus*. В ряде работ было показано, что развитие гиперкоагуляции при пневмонии коррелирует с уровнем эндотоксинов [142] и взаимосвязано с развитием инфаркта миокарда и тромбоэмболических осложнений [143]. Hansen G.M. и соавт. (2016), при исследовании тромбов коронарных артерий у пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST обнаружили ДНК *P. aeruginosa* и бактериальных микроколоний [41, 144].

На данный момент создано несколько экспериментальных моделей для изучения развития тромбоза при бактериальных инфекциях. Исследования

включали такие бактерии как *S. aureus*, *P. aeruginosa*, стрептококки группы А, *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia spp*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, и *Salmonella typhimurium*. В течение первых 30 минут после заражения штаммом *S. aureus* или другим грамположительным организмом, *Bacillus cereus*, тромбоциты связываются с клетками Купфера в печени. Эти агрегаты могут помочь усилить захват бактерий и ограничить распространение бактерий, демонстрируя потенциальную ценность взаимодействия тромбоцитов с клетками организма для защиты хозяина. В нескольких исследованиях с использованием модели острого респираторного дистресс-синдрома, вызванного *P. aeruginosa*, был продемонстрирован дисбаланс прокоагулянтов во время острого повреждения легких, который был связан со снижением фибринолитической активности. Данные модели подчеркивают, что с одной стороны раннее фибринообразование ограничивает распространение инфекции, но с другой стороны может нанести вред организму [145].

Среди других прогностически неблагоприятных маркеров развития ССО у больных с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*, нами были отмечены гипопроотеинемия и анемия.

Многочисленные клинические исследования доказывают связь гипопроотеинемии и тяжелых исходов пневмонии. Liu Z. и соавт. (2023) при сравнении пациентов с бактериальной и вирусной инфекциями показали, что у пациентов с внебольничной бактериальной пневмонией уровень альбумина был значительно ниже, чем у пациентов с COVID-19. Гипопроотеинемия отрицательно коррелировала с уровнем С-реактивного белка и уровнем нейтрофилов. При проведении многофакторного регрессионного анализа гипопроотеинемия была статистически значимым предиктором неблагоприятного прогноза как у пациентов с внебольничной пневмонией, так и у больных с коронавирусной инфекцией SARS-CoV-2 [146].

В ряде работ была показана высокая прогностическая значимость гипопроотеинемии в развитии неблагоприятных исходов у больных с ХСН. Tan Y. и соавт. (2024) показали, что 5-ти летняя выживаемость пациентов с ХСН и гипоальбуминемией (<35 г/л) была достоверно ниже, чем у пациентов с ХСН и

нормальным уровнем альбумина (>35 г/л). Низкий уровень альбумина был ассоциирован со снижением ФВ ЛЖ [147].

В исследовании Yi S. и соавт. (2020) было показано, что у пациентов с ХСН гипопроотеинемия взаимосвязана с повышением уровня мозгового натрийуретического пептида и увеличивает риск смерти (ОР=0,62; 95% ДИ: 0,39–0,97) [148]. Ancion A. и соавт. (2017) при обследовании 546 пациентов с острой сердечной недостаточностью доказали, что гипопроотеинемия при поступлении является независимым предиктором ССО [149]. Во всех перечисленных работах не проводилось изучение факторов риска неблагоприятных исходов у больных с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*.

Потенциальная роль альбумина в предотвращении развития ишемической болезни сердца, сердечной недостаточности, фибрилляции предсердий, инсульта и венозной тромбоэмболии обусловлена антиоксидантным, противовоспалительным, антикоагулянтным и электрофизиологическим свойствами. В то время как противовоспалительная активность сывороточного альбумина остается не до конца изученной, точно установлено, что сывороточный альбумин является наиболее распространенным антиоксидантом в крови, а роль окислительного стресса в развитии сердечно–сосудистых заболеваний хорошо известна. Экспериментальные и клинические данные свидетельствуют о том, что гипоальбуминемия способствует отеку легких и задержке жидкости, что связано с неблагоприятным исходом у пациентов с установленной сердечной недостаточностью или с риском развития сердечной недостаточности [150, 151].

В нашей работе было показано, что анемия является фактором высокого риска ССО у больных с ХСН и пневмонией, обусловленной *P. aeruginosa*. В исследовании Abebe T.V. и соавт. (2017), в которое было включено 370 больных, распространенность анемии среди пациентов с ХСН достигала 41,9%. Авторы показали, что у пациентов с анемией наблюдалась более высокая летальность в течение 36 месяцев наблюдения (21,94%) по сравнению с пациентами без анемии (9,78%) [152]. По данным исследования Гуркиной А.А. и соавт. (2023), анемия при ХСН не всегда является следствием железодефицита и характеризуется

неадекватной продукцией эритропоэтина, повышением уровня С-реактивного белка и гепцидина [153].

Таким образом, *P. aeruginosa* способна индуцировать ферроптоз в эпителиальных клетках как с помощью экспрессии липоксигеназы, так и путем деградации ГП 4, тем самым влияя как на фактор агрессии, так и на фактор защиты. Это приводит к окислительному стрессу и увеличению воспалительного процесса в легком и сосудистом русле. Значительное увеличение медиаторов воспаления способствует развитию тяжелых сердечно-сосудистых осложнений (Рисунок 48).

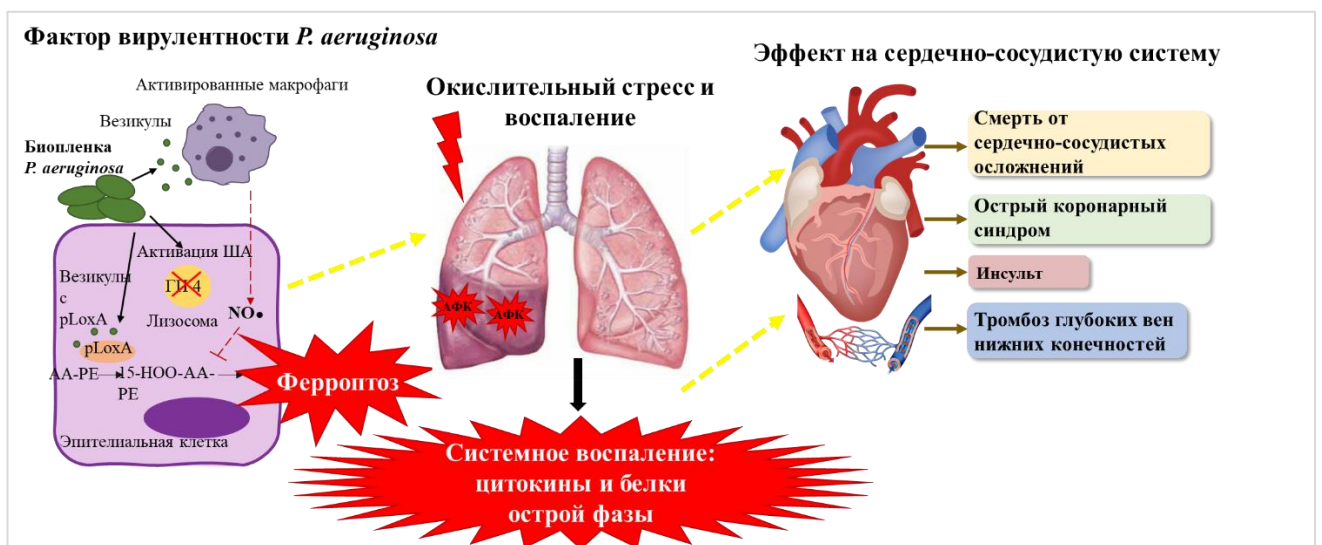


Рисунок 48 – Роль ферроптоза в развитии сердечно-сосудистых осложнений у больных ХСН и пневмонией, вызванной *Pseudomonas aeruginosa* [рисунок автора]

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В диссертационной работе оценено значение ферроптоза в развитии ССО у пациентов с ХСН и пневмонией, вызванной *P. aeruginosa*. Нами было показано, что появление у больных с ХСН *P. aeruginosa*-ассоциированной пневмонии, многократно повышает риск смерти от сердечно-сосудистых причин, острого коронарного синдрома и тромбоза вен нижних конечностей. Среди наиболее значимых предикторов ССО были снижение ФВ ЛЖ, увеличение провоспалительных маркеров и гипопротеинемия. В проведенном эксперименте *in vitro* были доказаны молекулярные механизмы развития ферроптоза при инфицировании *P. aeruginosa* и продемонстрирована протекторная роль оксида азота в уменьшении ферроптотической гибели клеток эпителия.

ВЫВОДЫ

1. Добавление супернатанта *P. aeruginosa* к клеткам бронхиального эпителия значительно увеличивало их ферроптотическую гибель с 4% до 36% ($p < 0,0001$) посредством экспрессии липоксигеназы pLoxA 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 общего белка плазмы крови менее 57 г/л (чувствительность 92,3%, специфичность 93,7%) и гемоглобина менее 110 г/л (чувствительность 92,9%, специфичность 68,7%) 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 СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГ – артериальная гипертензия

АД – артериальное давление

АФК – активные формы кислорода

БРА – блокатор рецепторов к ангиотензину II

ВАП – вентилятор–ассоциированная пневмония

ГП 4 – глутатионпероксидаза 4

ДИ – доверительный интервал

ЖХ/МС – жидкостная хроматография и тандемная масс–спектрометрия

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИВЛ – искусственная вентиляция легких

ИЛ – интерлейкин

ИМ – инфаркт миокарда

Ингибитор АПФ – ингибитор ангиотензинпревращающего фермента

КДО ЛЖ – конечно–диастолический объем левого желудочка

КСО ЛЖ – конечно–систолический объем ЛЖ

ЛДГ – лактатдегидрогеназа

ЛП – левое предсердие

ЛПС – липополисахарид

МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография

ОКС – острый коронарный синдром

ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения

ОР – относительный риск

ПОЛ – перекисное окисление липидов

РААС – ренин–ангиотензин–альдостероновая система

СНнФВ – ХСН со сниженной фракцией выброса левого желудочка

СНпФВ – ХСН с промежуточной фракцией выброса левого желудочка

СНсФВ – ХСН с сохраненной фракцией выброса левого желудочка

ССО – сердечно–сосудистые осложнения

ТЗС ЛЖ – толщина задней стенки левого желудочка

ТМЖП – толщина межжелудочковой перегородки

ТЭЛА – тромбоэмболия легочной артерии

ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка

ФНО- α – фактор некроза опухоли – α

ФП – фибрилляция предсердий

ХБП – хроническая болезнь почек

ХСН – хроническая сердечная недостаточность

AUC — значения площади под ROC-кривой (area under curve)

С-РБ – С-реактивный белок

СQ – хлорохин

COVID-19 (SARS-CoV-2) – новая коронавирусная инфекция «Coronavirus disease 2019»

DAMPs – фрагменты, ассоциированные с повреждениями

DOX – доксорубицин

ENPP2 – эктонуклеотидпирофосфатаза/фосфодиэстераза 2

HMOX1 – гемоксигеназа-1

SARS-CoV-2 – Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (тяжелый респираторный синдром коронавируса 2 типа)

iNOS – индуцибельная синтаза оксида азота

NO – оксид азота

NT-proBNP – N-терминальный фрагмент мозгового натрийуретического пептида

PA – *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa – *Pseudomonas aeruginosa*

PAMPs – патоген-ассоциированные молекулярные фрагменты

STING – стимулятор генов интерферона

siРНК – малые интерферирующие РНК

S. aureus – *Staphylococcus aureus*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Хроническая сердечная недостаточность в Российской Федерации: что изменилось за 20 лет наблюдения? Результаты исследования ЭПОХА–ХСН / Д.С. Поляков, И.В. Фомин, Ю.Н. Беленков [и др.] // Кардиология – 2021. – Т. 61. – № 4. – С. 4–14.
2. Incidence and Outcomes of Pneumonia in Patients With Heart Failure / L. Shen, P.S. Jhund, I.S. Anand [et al.] // Journal of the American College of Cardiology. – 2021. – Vol. 77. – № 16. – P. 1961–1973.
3. Association Between Hospitalization for Pneumonia and Subsequent Risk of Cardiovascular Disease / V.F. Corrales–Medina, K.N. Alvarez, L.A. Weissfeld [et al.] // Journal of the American Medical Association. – 2015. – Vol. 313. – № 3. – P. 264–274.
4. A nomogram to predict 28–day mortality in patients with sepsis combined coronary artery disease: retrospective study based on the MIMIC–III database / Q. Gu, P. Huang, Q. Yang [et al.] // Frontiers in medicine. – 2024. – Vol. 11. – P. 1433809.
5. Pseudomonas aeruginosa utilizes host polyunsaturated phosphatidylethanolamines to trigger theft–ferroptosis in bronchial epithelium / H.H. Dar, Y.Y. Tyurina, K. Mikulska–Ruminska [et al.] // Journal of clinical investigation. – 2018. – Vol. 128. – № 10. – P. 4639–4653.
6. New Insights into the Role of Ferroptosis in Cardiovascular Diseases / A.M. Fratta Pasini, C. Stranieri, F. Busti [et al.] // Cells. – 2023. – Vol. 12. – № 6. – P. 867.
7. Ferroptosis as a target for protection against cardiomyopathy / X. Fang, H. Wang, D. Han [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2019. – Vol. 116. – № 7. – P. 2672–2680.
8. Protective effects of the mechanistic target of rapamycin against excess iron and ferroptosis in cardiomyocytes / Y. Baba, J.K. Higa, B.K. Shimada [et al.] // American journal of physiology. Heart and circulatory physiology. – 2018. – Vol. 314. – № 3. – P. 659–668.

9. The molecular mechanisms of ferroptosis and its role in cardiovascular disease / Y. Zhang, L. Xin, M. Xiang [et al.] // *Biomedicine & pharmacotherapy*. – 2022. – Vol. 145. – P. 112423.
10. Ferroptosis: past, present and future / J. Li, F. Cao, H.L. Yin [et al.] // *Cell death & disease*. – 2020. – Vol. 11. – № 2. – P. 88.
11. Первичная профилактика сердечно–сосудистых заболеваний: акцент на коррекцию поведенческих факторов риска / В.С. Чулков, Е.С. Гаврилова, В.С. Чулков [и др.] // *Российский кардиологический журнал* – 2021. – Т. 26. – № 3S. – С. 4278.
12. 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 [и др.] // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. – 2024. – Т. 23. – № 3. – С. 3853.
13. Социально–экономический ущерб, обусловленный хронической сердечной недостаточностью, в Российской Федерации / О.М. Драпкина, С.А. Бойцов, В.В. Омеляновский [и др.] // *Российский кардиологический журнал*. – 2021. – Т. 26. – № 6. – С. 4490.
14. Особенности диагностики и лечения хронической сердечной недостаточности у пациентов пожилого и старческого возраста. Мнение экспертов Общества специалистов по сердечной недостаточности, Российской ассоциации геронтологов и гериатров и Евразийской ассоциации терапевтов / Я.А. Орлова, О.Н. Ткачёва, Г.П. Арутюнов [и др.] // *Кардиология*. – 2018. – Т. 58. – № 12S. – С. 42–72.
15. Хроническая сердечная недостаточность. Клинические рекомендации 2020 / Российское кардиологическое общество // *Российский кардиологический журнал*. – 2020. – Т. 25. – № 11. – С. 4083.
16. Анализ уровня маркеров окислительного стресса при хронической сердечной недостаточности в зависимости от фракции выброса левого желудочка / Е.А. Полунина, Л.П. Воронина, Е.А. Попов, О.С. Полунина // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. – 2018. – Т. 17. – № 5. – С. 34–39.

17. Палаткина, Л.О. Окислительный стресс – роль в патогенезе хронической сердечной недостаточности, возможности коррекции / Л.О. Палаткина, О.Н. Корнеева, О.М. Драпкина // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2012. – Т. 11. – № 6. – С. 91–94.
18. McDonagh, T. 2021 Рекомендации ESC по диагностике и лечению острой и хронической сердечной недостаточности / T. McDonagh, M. Metra // Российский кардиологический журнал. – 2023. – Т. 28. – № 1. – С. 5168.
19. A contemporary appraisal of the heart failure epidemic in Olmsted County, Minnesota, 2000 to 2010 / Y. Gerber, S.A. Weston, M.M. Redfield [et al.] // JAMA internal medicine. – 2015. – Vol. 175. – № 6. – P. 996–1004.
20. Temporal Trends in the Incidence of and Mortality Associated With Heart Failure With Preserved and Reduced Ejection Fraction / C.W. Tsao, A. Lyass, D. Enserro [et al.] // JACC Heart failure. – 2018. – Vol. 6. – № 8. – P. 678–685.
21. 20-year trends in cause-specific heart failure outcomes by sex, socioeconomic status, and place of diagnosis: population-based study / C.A. Lawson, F. Zaccardi, I. Squire [et al.] // The Lancet. Public health. – 2019. – Vol. 4. – № 8. – P.406–420.
22. Mosterd, A. Clinical epidemiology of heart failure / A. Mosterd, A.W. Hoes // Heart (British Cardiac Society). – 2007. – Vol. 93. – № 9. – P.1137–1146.
23. Oxygen Therapy in Pulmonary Vascular Disease: A Systematic Review, Meta-Analysis, and Comment / M. Schuster, J. Müller, E.I. Schwarz [et al.] // Heart failure clinics. – 2023. – Vol. 19. – № 1S. – P. 1–11.
24. COVID 19 and heart failure: from infection to inflammation and angiotensin II stimulation. Searching for evidence from a new disease / D. Tomasoni, L. Italia, M. Adamo [et al.] // European journal of heart failure. – 2020. – Vol. 22. – № 6. – P. 957–966.
25. Избранные лекции по терапии [сборник лекций] / [под ред. Г.П. Арутюнова]. – Москва: КСТ Интерфорум, 2017. – 84 с. – ISBN 978–5–9908980–3–5. – Текст: непосредственный.

26. Trajectories of risk after hospitalization for heart failure, acute myocardial infarction, or pneumonia: retrospective cohort study / K. Dharmarajan, A.F. Hsieh, V.T. Kulkarni [et al.] // *BMJ (Clinical research ed.)*. – 2015. – Vol. 350. – Н. 411.
27. Внебольничная пневмония: федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению / С.Н. Авдеев, А.В. Дехнич, А.А. Зайцев [и др.] // *Пульмонология*. – 2022. – Т. 32. – № 3. – С. 295–355.
28. Уровни кардиоспецифичных биомаркеров и показатели трехлетней выживаемости у госпитализированных больных с хронической сердечной недостаточностью и внебольничной пневмонией / В.И. Подзолков, Н.А. Драгомирецкая, И.Д. Медведев [и др.] // *Российский кардиологический журнал*. – 2024. – Т. 29. – № 6. – С. 5875.
29. Chronic heart failure and risk of hospitalization with pneumonia: a population-based study / A. Mor, R.W. Thomsen, S.P. Ulrichsen, H.T. Sørensen // *European journal of internal medicine*. – 2013. – Vol. 24. – № 4. – P. 349–353.
30. International ERS/ESICM/ESCMID/ALAT guidelines for the management of hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia: Guidelines for the management of hospital-acquired pneumonia (HAP)/ventilator-associated pneumonia (VAP) of the European Respiratory Society (ERS), European Society of Intensive Care Medicine (ESICM), European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) and Asociación Latinoamericana del Tórax (ALAT) / A. Torres, M.S. Niederman, J. Chastre [et al.] // *The European respiratory journal*. – 2017. – Vol. 50. – № 3. – P. 1700582.
31. Clinical outcome of nosocomial pneumonia caused by Carbapenem-resistant gram-negative bacteria in critically ill patients: a multicenter retrospective observational study / C.Y. Chen, K.Y. Yang, C.K. Peng [et al.] // *Scientific reports*. – 2022. – Vol. 12. – № 1. – P. 7501.
32. Alvarez, P.A. Frequency and Impact of Infectious Disease Conditions Diagnosed During Decompensated Heart Failure Hospitalizations in the United States / P.A. Alvarez, A. Briasoulis, A.H. Malik // *The American journal of cardiology*. – 2023. – Vol. 191. – P. 1–7.

33. Predictors and prognostic implications of hospital–acquired pneumonia in patients admitted for acute heart failure / M. Polovina, M. Tomić, M. Viduljević [et al.] // *Frontiers in cardiovascular medicine*. – 2023. – Vol. 10. – P. 1254306.
34. Prevalence, Determinants, and Prognostic Significance of Hospital Acquired Pneumonia in Patients with Acute Heart Failure / A. Tada, K. Omote, T. Nagai [et al.] // *Journal of clinical medicine*. – 2020. – Vol. 9. – № 7. – P. 2219.
35. Impact of social factors on risk of readmission or mortality in pneumonia and heart failure: systematic review / L. Calvillo–King, D. Arnold, K.J. Eubank [et al.] // *Journal of general internal medicine*. – 2013. – Vol. 28. – № 2. – P. 269–282.
36. Оценка влияния внебольничной пневмонии на краткосрочный и долгосрочный прогноз у больного с декомпенсацией хронической сердечной недостаточности / Д.С. Поляков, И.В. Фомин, Ф.Ю. Валикулова [и др.] // *Терапевтический архив*. – 2016. – Т. 88. – № 9. – С. 17–22.
37. Первое открытое исследование синдрома острой декомпенсации сердечной недостаточности и сопутствующих заболеваний в Российской Федерации. Независимый регистр ОРАКУЛ–РФ / А.Г. Арутюнов, Д.О. Драгунов, Г.П. Арутюнов [и др.] // *Кардиология*. – 2015. – Т. 55. – № 5. – С. 12–21.
38. Death among patients hospitalized with pneumonia: Implications for hospital outcome measures / M.S. Stefan, R. Jaber, P.K. Lindenauer [et al.] // *JAMA internal medicine*. – 2015. – Vol. 175. – № 5. – P. 851–853.
39. Post–Infectious Myocardial Infarction: New Insights for Improved Screening / A. Putot, F. Chague, P. Manckoundia [et al.] // *Journal of clinical medicine*. – 2019. – Vol. 8. – № 6. – P. 827.
40. Acute Bacterial Pneumonia is Associated With the Occurrence of Acute Coronary Syndromes / V.F. Corrales–Medina, J. Serpa, A.M. Rueda [et al.] // *Medicine (Baltimore)*. – 2009. – Vol. 88. – № 3. – P. 154–159.
41. 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 [и др.] // *Российский кардиологический журнал*. – 2024. – Т. 29. – № 4. – С. 5817.

42. Cardiac Complications in Patients with Community–Acquired Pneumonia: A Systematic Review and Meta–Analysis of Observational Studies / V.F. Corrales–Medina, K.N. Suh, G. Rose [et al.] // *PLoS medicine*. – 2011. – Vol. 8. – № 6. – P. e1001048.
43. Restrepo, M.I. Pneumonia as a cardiovascular disease / M.I. Restrepo, L.F. Reyes // *Respirology*. – 2018. – Vol. 23. – № 3. – P. 250–259.
44. Souders, C.A. Cardiac fibroblast: the renaissance cell / C.A. Souders, S.L. Bowers, T.A. Baudino // *Circulation research*. – 2009. – Vol. 105. – № 12. – P. 1164–76.
45. Impact of infection–related admission in patients with heart failure: a 10 years national cohort study / C.Y. Chen, C.H. Lee, H.W. Lin [et al.] // *Scientific reports*. – Vol. 13. – № 1. – P. 6941.
46. Acute pneumonia and the cardiovascular system / V.F. Corrales–Medina, D.M. Musher, S. Shachkina, J.A. Chirinos // *Lancet*. – 2013. – Vol. 381. – № 9865. – P. 496–505.
47. Risk stratification and prognosis of acute cardiac events in hospitalized adults with community–acquired pneumonia / D. Viasus, C. Garcia–Vidal, F. Manresa [et al.] // *The Journal of infection*. – 2013. – Vol. 66. – № 1. – P. 27–33.
48. Corrales–Medina, V.F. Role of acute infection in triggering acute coronary syndromes / V.F. Corrales–Medina, M. Madjid, D.M. Musher // *The Lancet. Infectious diseases*. – 2010. – Vol. 10. – № 2. – P. 83–92.
49. Association between pneumonia hospitalisation and long–term risk of cardiovascular disease in Chinese adults: A prospective cohort study / Y. Hu, Z. Sun, C. Yu [et al.] // *EClinicalMedicine*. – 2022. – Vol. 55. – P. 101761.
50. Is community–acquired pneumonia an independent risk factor for cardiovascular disease? / A. Singanayagam, A. Singanayagam, D.H. Elder, J.D. Chalmers // *The European respiratory journal*. – Vol. 39. – № 1. – P.187–196.
51. Musher, D.M. Acute infection and myocardial infarction / D.M. Musher, M.S. Abers, V.F. Corrales–Medina // *The New England journal of medicine*. – 2019. – Vol. 380. – № 2. – P. 171–176.
52. Epidemiology of heart failure / A. Groenewegen, F.H. Rutten, A. Mosterd, A.W. Hoes // *European journal of heart failure*. – 2020. – Vol. 22. – № 8. – P. 1342–1356.

53. Cardiac complications in patients with community-acquired pneumonia: incidence, timing, risk factors, and association with short-term mortality / V.F. Corrales-Medina, D.M. Musher, G.A. Wells [et al.] // *Circulation*. – Vol. 125. – № 6. – P. 773–781.
54. Острый инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST электрокардиограммы. Клинические рекомендации 2020 / Российское кардиологическое общество // *Российский кардиологический журнал*. – 2020. – Т. 25. – № 11. – С. 4103.
55. Шальнев, В.И. Острый коронарный синдром: как снизить остаточный воспалительный риск? / В.И. Шальнев // *Российский кардиологический журнал*. – 2020. – Т. 25. – № 2. – С. 3720.
56. Platelet activation is associated with myocardial infarction in patients with pneumonia / R. Cangemi, M. Casciaro, E. Rossi [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2014. – Vol. 64. – № 18. – P. 1917–1925.
57. *Streptococcus pneumoniae* translocates into the myocardium and forms unique microlesions that disrupt cardiac function / A.O. Brown, B. Mann, G. Gao [et al.] // *PLoS pathogens*. – 2014. – Vol. 10. – № 9. – P. e1004383.
58. Cardiovascular Events Among Survivors of Sepsis Hospitalization: A Retrospective Cohort Analysis / J.C. Jentzer, P.R. Lawler, H.K. Van Houten [et al.] // *Journal of the American Heart Association*. – 2023. – Vol. 12. – № 3. – P. e027813.
59. Клинико-функциональный статус пациентов с хронической обструктивной болезнью легких и фибрилляцией предсердий / Е.И. Леонова, Т.В. Адашева, В.С. Задионченко [и др.] // *Пульмонология*. – 2017. – Т. 27. – № 6. – С. 760–766.
60. Atrial fibrillation in pneumonia: what clinical implications at long-term? / M. Vitolo, N. Bonini, J.F. Imberti, G. Boriani // *Internal and emergency medicine*. – 2023. – Vol. 18. – № 2. – P. 347–350.
61. Atrial Fibrillation Is an Independent Risk Factor for Hospital-Acquired Pneumonia / J. Zhu, X. Zhang, G. Shi [et al.] // *PLoS One*. – 2015. – Vol. 10. – № 7. – P. e0131782.
62. Predictive Performance of Risk Factors for Multidrug-Resistant Pathogens in Nosocomial Pneumonia / C. Dominedò, A. Ceccato, M. Niederman [et al.] // *Annals of the American Thoracic Society*. – 2021. – Vol. 18. – № 5. – P. 807–814.

63. Hauser, A. The type III secretion system of *Pseudomonas aeruginosa*: infection by injection / A. Hauser // *Nature reviews. Microbiology*. – 2009. – Vol. 7. – № 9. – P. 654–665.
64. Руднов, В.А. Антибиотикотерапия госпитальных инфекций вызванных *P. aeruginosa* / В.А. Руднов // *Русский медицинский журнал*. – 2005. – Т. 7. – С. 485.
65. *Pseudomonas aeruginosa*: Infections and novel approaches to treatment "Knowing the enemy" the threat of *Pseudomonas aeruginosa* and exploring novel approaches to treatment / N. Sathe, P. Beech, L. Croft [et al.] // *Infectious medicine*. – 2023. – Vol. 2. – № 3. – P. 178–194.
66. *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics / S. Qin, W. Xiao, C. Zhou [et al.] // *Signal transduction and targeted therapy*. – Vol. 7. – № 1. – P. 199.
67. *Pseudomonas aeruginosa* в РФ: история одного из наиболее успешных нозокомиальных патогенов / Е.Ю. Склеенова, И.С. Азизов, Е.А. Шек [и др.] // *Клиническая Микробиология и Антимикробная Химиотерапия*. – Т. 20. – № 3. – С. 164–171.
68. Wang, T. A case report of community-acquired *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia complicated with MODS in a previously healthy patient and related literature review / T. Wang, Y. Hou, R. Wang // *BMC infectious diseases*. – 2019. – Vol. 19. – № 1. – P. 130.
69. Ферроптоз-ассоциированное повреждение как потенциальная мишень в терапии сердечно-сосудистых заболеваний / В.И. Подзолков, А.И. Тарзиманова, Л.А. Пономарева [и др.] // *Терапевтический архив*. – 2022. – Т. 94. – №12. – С. 1421–1425.
70. Eagle, H. Nutrition needs of mammalian cells in tissue culture / H. Eagle // *Science*. – 1955. – Vol. 122. – № 3168. – P. 501–514.
71. Identification of genotype-selective antitumor agents using synthetic lethal chemical screening in engineered human tumor cells / S. Dolma, S.L. Lessnick, W.C. Hahn, B.R. Stockwell // *Cancer Cell*. – 2003. – Vol. 3. – № 3. – P. 285–296.

72. Yang, W.S. Synthetic lethal screening identifies compounds activating iron-dependent, nonapoptotic cell death in oncogenic-RAS-harboring cancer cells / W.S. Yang, B.R. Stockwell // *Chemistry & biology*. – 2008. – Vol. 15. – № 3. – P.234–245.
73. Ferroptosis: An iron-dependent form of nonapoptotic cell death / S.J. Dixon, K.M. Lemberg, M.R. Lamprecht [et al.] // *Cell*. – 2012. – Vol. 149. – № 5. – P. 1060–1072.
74. Ковальчук, С.Н. Молекулярные механизмы микробной устойчивости к дезинфицирующим средствам / С.Н. Ковальчук, Л.С. Федорова, Е.Н. Ильина // *Антибиотики и Химиотерапия*. – 2023. – Т. 68. – № 1–2. – С. 45–56.
75. Чеботарь, И.В. Механизмы резистентности *Pseudomonas aeruginosa* к антибиотикам и их регуляция / И.В. Чеботарь, Ю.А. Бочарова, Н.А. Маянский // *Клиническая Микробиология и Антимикробная Химиотерапия*. – 2017. – Т. 19. – № 4. – С. 308–319.
76. Кузнецова, А.М., Дукат, А.М. Биопленки. Как живет в бактериальных многоэтажках? // *Биомолекула: электрон. науч.-образоват. журн.* URL: <https://biomolecula.ru/articles/bioplenki-kak-zhivetsia-v-bakterialnykh-mnogoetazhkakh>. Дата публикации: 20.01.2023.
77. A new thiol-independent mechanism of epithelial host defense against *Pseudomonas aeruginosa*: iNOS/NO• sabotage of theft-ferroptosis / H.H. Dar, T.S. Anthonymuthu, L.A. Ponomareva // *Redox biology*. – 2021. – Vol. 45. – P. 102045.
78. Цыркунов, В.М. Лизосомально-зависимая гибель гепатоцитов при хроническом гепатите с / В.М. Цыркунов, В.П. Андреев, Р.И. Кравчук // *Гепатология и гастроэнтерология*. – 2020. – Т.4. – №1. – С. 34–44.
79. Redox lipid reprogramming commands susceptibility of macrophages and microglia to ferroptotic death / A.A. Kapralov, Q. Yang, H.H. Dar [et al.] // *Nature chemical biology*. – 2020. – Vol. 16. – № 3 – P. 278–290.
80. Катион нитрозония NO⁺ ингибирует функции оксида азота (NO) в регуляции роста биопленок *Pseudomonas aeruginosa* / С.В. Васильева, Н.В. Алексеева, Ю.М. Романова, А.Ф. Ванин // *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. – 2023. – Т. 41. – № 1. – С. 32–37.

81. Ильина, Т.С. Бактериальные биопленки: роль в хронических инфекционных процессах и поиск средств борьбы с ними / Т.С. Ильина, Ю.М. Романова // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2021. – Т. 39. – № 2. – С. 14-24.
82. Łusiak–Szelachowska, M. Bacteriophages and Lysins in Biofilm Control / M. Łusiak–Szelachowska, B. Weber–Dąbrowska, A. Górski // *Virologica Sinica*. – 2020. – Vol. 35. – № 2. – P. 125–133.
83. Cai, Y.M. NO donors and NO delivery methods for controlling biofilms in chronic lung infections. / Y.M. Cai, Y.D. Zhang, L. Yang // *Applied microbiology and biotechnology*. – 2021. – Vol. 105. – № 10. – P. 3931–3954.
84. Юринская, М.М. Клеточная гибель и функциональная активность нейтрофилов у больных хронической сердечной недостаточностью при эндотоксемии / М.М. Юринская, М.Г. Винокуров, А.В. Сусликов // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. – 2022. – № 8. – С. 15–19.
85. Ferroptosis: The Potential Target in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction / Q. Li, Z. Zhao, X. Zhou [et al.] // *Cells*. – 2022. – Vol. 11. – № 18. – P. 2842.
86. Ускач, Т.М. Значение дефицита железа при хронической сердечной недостаточности / Т.М. Ускач // *Терапевтический архив*. – 2022. – Т. 94. – №4. – С. 572–578.
87. Cardiac ferroportin regulates cellular iron homeostasis and is important for cardiac function / S. Lakhal–Littleton, M. Wolna, C.A. Carr [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2015. – Vol. 112. – № 10. – P. 3164–3169.
88. Loss of Cardiac Ferritin H Facilitates Cardiomyopathy via Slc7a11–Mediated Ferroptosis / X. Fang, Z. Cai, H. Wang [et al.] // *Circulation research*. – 2020. – Vol. 127. – № 4. – P. 486–501.
89. Role of TLR4/NADPH oxidase 4 pathway in promoting cell death through autophagy and ferroptosis during heart failure / X. Chen, S. Xu, C. Zhao, B. Liu //

Biochemical and biophysical research communications. – 2019. – Vol. 516. – № 1. – P. 37–43.

90. Puerarin protects against heart failure induced by pressure overload through mitigation of ferroptosis / B. Liu, C. Zhao, H. Li [et al.] // Biochemical and biophysical research communications. – 2018. – Vol. 497. – № 1. – P. 233–240.

91. SLC7A11/xCT Prevents Cardiac Hypertrophy by Inhibiting Ferroptosis / X. Zhang, C. Zheng, Z. Gao [et al.] // Cardiovascular drugs and therapy. – 2022. – Vol. 36. – № 3. – P. 437–447.

92. Nicotine inhibits cardiac apoptosis induced by lipopolysaccharide in rats / J. Suzuki, E. Bayna, E. Dalle Molle, W.Y. Lew // Journal of the American College of Cardiology. – 2003. – Vol. 41. – № 3. – P. 482–488.

93. STING–IRF3 contributes to lipopolysaccharide–induced cardiac dysfunction, inflammation, apoptosis and pyroptosis by activating NLRP3 / N. Li, H. Zhou, H. Wu [et al.] // Redox biology. – 2019. – Vol. 24. – P. 101215.

94. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4 / W.S. Yang, R. SriRamaratnam, M.E. Welsch [et al.] // Cell. – 2014. – Vol. 156. – № 1–2. – P. 317–331.

95. Ferritinophagy–mediated ferroptosis is involved in sepsis–induced cardiac injury / N. Li, W. Wang, H. Zhou [et al.] // Free radical biology & medicine. – 2020. – Vol. 160. – P. 303–318.

96. Dexmedetomidine alleviated sepsis-induced myocardial ferroptosis and septic heart injury / C. Wang, W. Yuan, A. Hu [et al.] // Molecular medicine reports. – 2020. – Vol. 22. – № 1. – P. 175–184

97. A Panoramic View of Ferroptosis in Cardiovascular Disease / X. Cheng, C. Yu, X. Yang [et al.] // Kidney diseases. – 2023. – Vol. 9. – № 3. – P. 173–186.

98. 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.

99. Программа СКАТ (Стратегия Контроля Антимикробной Терапии) при оказании стационарной медицинской помощи. Методические рекомендации для лечебно-профилактических учреждений Москвы / С.Я. Яковлев, М.В. Журавлева, Д.Н. Проценко [и др.] // *Consilium Medicum*. 2017. – Т. 19. – № 7–1. – С. 15–51.

100. The potential of nitric oxide releasing therapies as antimicrobial agents / D.O. Schairer, J.S. Chouake, J.D. Nosanchuk, A.J. Friedman // *Virulence*. – Vol. 3. – № 3. – P. 271–279.

101. 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 [и др.] // *Клинический разбор в общей медицине*. – 2024. – Т. 5. – № 10. – С. 64–68.

102. Септический шок у взрослых: клинические рекомендации Общероссийской общественной организации «Федерация анестезиологов и реаниматологов» / М.Ю. Киров, В.В. Кузьков, Д.Н. Проценко [и др.] // *Вестник интенсивной терапии имени А.И. Салтанова*. – 2023. – № 4. – С. 7–24.

103. Chaperone-mediated autophagy is involved in the execution of ferroptosis / Z. Wu, Y. Geng, X. Lu [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2019. – Vol. 116. – № 8. – P. 2996–3005.

104. Acid sphingomyelinase-dependent autophagic degradation of GPX4 is critical for the execution of ferroptosis / F. Thayyullathil, A.R. Cheratta, A. Alakkal [et al.] // *Cell death & disease*. – 2021. – Vol. 12. – № 1. – P. 26.

105. Миронова, О.Ю. Анемия хронических заболеваний: современное состояние проблемы и перспективы / О.Ю. Миронова, А.С. Панферов // *Терапевтический архив*. – 2022. – Т. 94. – № 12. – С. 1349–1354.

106. Механизмы развития сердечной недостаточности при ожирении / О.В. Гриценко, Г.А. Чумакова, И.В. Шевляков, Е.В. Трубина // *Российский кардиологический журнал*. – 2018. – № 5. – С. 81–86.

107. Wang, Y. Ferroptosis: a new strategy for cardiovascular disease / Y. Wang, J. Wu // *Frontiers in cardiovascular medicine*. – 2023. – Vol. 10. – P. 1241282.
108. ENPP2 protects cardiomyocytes from erastin-induced ferroptosis / Y.T. Bai, R. Chang, H. Wang [et al.] // *Biochemical and biophysical research communications*. – 2018. – Vol. 499. – № 1. – P. 44–51.
109. 2023 Focused Update of the 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure / T.A. McDonagh, M. Metra, M. Adamo [et al.] // *European heart journal*. – 2023. – Vol. 44. – № 37. – P. 3627– 3639.
110. Canagliflozin mitigates ferroptosis and ameliorates heart failure in rats with preserved ejection fraction / S. Ma, L.L. He, G.R. Zhang [et al.] // *Naunyn–Schmiedeberg's archives of pharmacology*. – 2022. – Vol. 395. – № 8. – P. 945–962.
111. Canagliflozin mitigates ferroptosis and improves myocardial oxidative stress in mice with diabetic cardiomyopathy / S. Du, H. Shi, L. Xiong [et al.] // *Frontiers in endocrinology*. – 2022. – Vol. 13. – P. 1011669.
112. Dapagliflozin alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury by reducing ferroptosis via MAPK signaling inhibition / W. Chen, Y. Zhang, Z. Wang [et al.] // *Frontiers in pharmacology*. – 2023. – Vol. 14. – P. 1078205.
113. Inhibition of ferroptosis reverses heart failure with preserved ejection fraction in mice / Y. Xiong, X. Liu, L. Jiang [et al.] // *Journal of translational medicine*. – 2024. – Vol. 22. – № 1. – P. 199.
114. Suppression of atherogenesis by overexpression of glutathione peroxidase–4 in apolipoprotein E–deficient mice / Z. Guo, Q. Ran, L.J. Roberts 2nd [et al.] // *Free radical biology & medicine*. – 2008. – Vol. 44. – № 3. – P. 343–352.
115. Genetic analysis of potential biomarkers and therapeutic targets in ferroptosis from coronary artery disease / X. Wu, K. Qin, C.D. Iroegbu [et al.] // *Journal of cellular and molecular medicine*. – 2022. – Vol. 26. – № 8. – P. 2177–2190.
116. Quantitative proteomic analyses reveal that GPX4 downregulation during myocardial infarction contributes to ferroptosis in cardiomyocytes / T.J. Park, J.H. Park, G.S. Lee [et al.] // *Cell death & disease*. – 2019. – Vol. 10. – № 11. – P. 835.

117. Platelet Internalization Mediates Ferroptosis in Myocardial Infarction / S. Miao, Q. Zhang, W. Ding [et al.] // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. – 2023. – Vol. 43. – № 2. – P. 218–230.
118. Machine Learning Revealed Ferroptosis Features and a Novel Ferroptosis–Based Classification for Diagnosis in Acute Myocardial Infarction / D. Huang, S. Zheng, Z. Liu [et al.] // *Frontiers in genetics*. – 2022. – Vol. 13. – P. 813438.
119. Secondary ferroptosis promotes thrombogenesis after venous injury in rats / H. Ma, X. Yan, J. Liu [et al.] // *Thrombosis research*. – 2022. – Vol. 216. – P. 59–73.
120. Ferroportin–mediated ferroptosis involved in new–onset atrial fibrillation with LPS–induced endotoxemia / J. Fang, B. Kong, W. Shuai [et al.] // *European journal of pharmacology*. – 2021. – Vol. 913. – P. 174622.
121. Nitric oxide protects against ferroptosis by aborting the lipid peroxidation chain reaction / T. Homma, S. Kobayashi, M. Conrad [et al.] // *Nitric oxide: biology and chemistry*. – 2021. – Vol. 115. – P. 34–43.
122. Fujii, J. Superoxide Radicals in the Execution of Cell Death / J. Fujii, T. Homma, T. Osaki // *Antioxidants (Basel)*. – 2022. – Vol. 11. – № 3. – P. 501.
123. Nitric oxide inhibition of lipid peroxidation: Kinetics of reaction with lipid peroxy radicals and comparison with alpha–tocopherol / V.B. O’Donnell, P.H. Chumley, N. Hogg [et al.] // *Biochemistry*. – 1997. – Vol. 36. – № 49. – P. 15216–15223.
124. Dolan, S.K. Current Knowledge and Future Directions in Developing Strategies to Combat *Pseudomonas aeruginosa* Infection / S.K. Dolan // *Journal of molecular biology*. – 2020. – Vol. 432. – № 20. – P. 5509–5528.
125. Reinforcement of the bactericidal effect of ciprofloxacin on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm by hyperbaric oxygen treatment / M. Kolpen, N. Mousavi, T. Sams [et al.] // *International journal of antimicrobial agents*. – 2016. – Vol. 47. – № 2. – P. 163–167.
126. Involvement of nitric oxide in biofilm dispersal of *Pseudomonas aeruginosa* / N. Barraud, D.J. Hassett, S.H. Hwang [et al.] // *Journal of bacteriology*. – 2006. – Vol. 188. – № 21. – P. 7344–7353.

127. Analysis of the broad-spectrum potential of nitric oxide for antibacterial activity against clinically isolated drug-resistant bacteria / L.M. Estes Bright, M.K. Chug, S. Thompson [et al.] // *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials.* – 2024. – Vol. 12. – № 7. – P. e35442.
128. Inhaled high dose nitric oxide is a safe and effective respiratory treatment in spontaneous breathing hospitalized patients with COVID-19 pneumonia / B. Safaee Fakhr, R. Di Fenza, S. Gianni [et al.] // *Nitric oxide: biology and chemistry.* – 2021. – Vol. 116. – P. 7–13.
129. A safety evaluation of intermittent high-dose inhaled nitric oxide in viral pneumonia due to COVID-19: a randomised clinical study / T. Wolak, D. Dicker, Y. Shifer [et al.] // *Scientific reports.* – 2024. – Vol. 14. – № 1. – P. 17201.
130. Исследование эффективности и безопасности высоких доз ингаляционного оксида азота у пациентов с внебольничной пневмонией: пилотное исследование / Н.А. Царева, Г.В. Неклюдова, А.И. Ярошецкий [и др.] // *Пульмонология.* – 2024. – Т. 34. – № 3. – С. 417–426.
131. Клинические рекомендации ОССН – РКО – РНМОТ. Сердечная недостаточность: хроническая (ХСН) и острая декомпенсированная (ОДСН). Диагностика, профилактика и лечение / В.Ю. Мареев, И.В. Фомин, Ф.Т. Агеев [и др.] // *Кардиология.* – 2018. – Т. 58. – № 6S. – С. 8–158.
132. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory infections in 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 / GBD 2016 Lower Respiratory Infections Collaborators // *The Lancet. Infectious diseases.* – 2018. – Vol. 18. – № 11. – P. 1191–1210.
133. Cardiovascular Complications in Community-Acquired Pneumonia / A. Desai, S. Aliberti, F. Amati [et al.] // *Microorganisms.* – 2022. – Vol. 10. – № 11. – P. 2177.
134. Reynolds, D. The Epidemiology and Pathogenesis and Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* Infections: An Update / D. Reynolds, M. Kollef // *Drugs.* – 2021. – Vol. 81. – № 18. – P. 2117–2131.

135. Violi, F. Pneumonia, thrombosis and vascular disease / F. Violi, R. Cangemi, C. Calvieri // *Journal of thrombosis and haemostasis*. – 2014. – Vol. 12. – № 9. – P. 1391–1400.
136. Risk Factors for Mortality of Inpatients with *Pseudomonas aeruginosa* Bacteremia in China: Impact of Resistance Profile in the Mortality / Y. Zhang, Y. Li, J. Zeng [et al.] // *Infection and drug resistance*. – 2020. – Vol. 13. – P. 4115–4123.
137. Infection–Related Hospitalization in Heart Failure With Reduced Ejection Fraction: A Prospective Observational Cohort Study / M. Drozd, E. Garland, A.M.N. Walker [et al.] // *Circulation. Heart failure*. – 2020. – Vol. 13. – № 5. – P. e006746.
138. A Non–Human Primate Model of Severe Pneumococcal Pneumonia / L.F. Reyes, M.I. Restrepo, C.A. Hinojosa [et al.] // *PLoS One*. – 2016. – Vol. 11. – № 11. – P. e0166092.
139. *Pseudomonas aeruginosa* pulmonary infection results in S100A8/A9–dependent cardiac dysfunction / N. Kumar, M.J. Pestrak, Q. Wu [et al.] // *PLoS pathogens*. – 2023. – Vol. 19. – № 8. – P. e1011573.
140. Leucocyte count predicts cardiovascular risk in heart failure with preserved ejection fraction: insights from TOPCAT Americas / N.S. Bajaj, R. Kalra, K. Gupta [et al.] // *ESC heart failure*. – 2020. – Vol. 7. – № 4. – P. 1676–1687.
141. Liu, C. C–reactive protein and cardiovascular diseases: a synthesis of studies based on different designs / C. Liu, C. Li // *European journal of preventive cardiology*. – 2023. – Vol. 30. – № 15. – P. 1593–1596.
142. Low–grade endotoxemia and clotting activation in the early phase of pneumonia / R. Cangemi, P. Della Valle, C. Calvieri [et al.] // *Respirology*. – 2016. – Vol. 21. – № 8. – P. 1465–1471.
143. Platelet activation is associated with myocardial infarction in patients with pneumonia / R. Cangemi, M. Casciaro, E. Rossi [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2014. – Vol. 64. – № 18. – P. 1917–1925.
144. *Pseudomonas aeruginosa* Microcolonies in Coronary Thrombi from Patients with ST–Segment Elevation Myocardial Infarction / G.M. Hansen, D. Belstrøm, M. Nilsson [et al.] // *PLoS One*. – 2016. – Vol. 11. – № 12. – P. e0168771.

145. Understanding Infection–Induced Thrombosis: Lessons Learned From Animal Models / N. Beristain–Covarrubias, M. Perez–Toledo, M.R. Thomas [et al.] // *Frontiers in immunology*. – 2019. – Vol. 10. – P. 2569.
146. Biomarkers for Lipid and Albumin Metabolism in Hospitalized Patients with Underlying Diseases and Community–Acquired Pneumonia Caused by Bacterial or SARS–CoV–2 Infection / Z. Liu, Q. Wang, H. Wang [et al.] // *Journal of inflammation research*. – 2023. – Vol. 16. – P. 1135–1145.
147. Effect of hypoproteinemia on mortality of elderly male patients with chronic heart failure / Y. Tan, W. Xiang, Y. Chen [et al.] // *Medicine (Baltimore)*. – 2024. – 103. – № 5. – P. e37078.
148. Yi, S. Decreased albumin is associated with elevated N–terminal pro–brain natriuretic peptide and poor long–term prognosis in patients with chronic heart failure / S. Yi, M. Chen // *Medicine (Baltimore)*. – 2020. – Vol. 99. – № 51. – P. e23872.
149. Serum albumin level and hospital mortality in acute non–ischemic heart failure / A. Ancion, S. Allepaerts, C. Oury [et al.] // *ESC heart failure*. – 2017. – Vol. 4. – № 2. – P. 138–145.
150. Arques, S. Human serum albumin in cardiovascular diseases / S. Arques // *European journal of internal medicine*. – 2018. – Vol. 52. – P. 8–12.
151. Critical appraisal of the role of serum albumin in cardiovascular disease / S.C. Chien, C.Y. Chen, C.F. Lin, H.I. Yeh // *Biomarker research*. – 2017. – Vol. 5. – P. 31.
152. Anemia in severe heart failure patients: does it predict prognosis? / T.B. Abebe, E.A. Gebreyohannes, A.S. Bhagavathula [et al.] // *BMC cardiovascular disorders*. – 2017. – Vol. 17. – № 1. – P. 248.
153. Характеристика анемии при хронической сердечной недостаточности: обмен железа, активность эритропоэза и маркеры воспаления / А.А. Гуркина, Н.И. Стулков, Н.Д. Кислый [и др.] // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. – 2023. – Т. 22. – № 1. – С. 3332.