

На правах рукописи

ХУТАЕВА Карина Алиевна

**ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
МАРКЕРОВ АПОПТОЗА P53 И BCL-2 У ПОЖИЛЫХ
ПАЦИЕНТОВ С ВИРУСНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ,
ВЫЗВАННОЙ SARS-COV-2**

3.1.18. Внутренние болезни

**АВТОРЕФЕРАТ
диссертации
на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук**

Астрахань – 2024

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

ДЕМИДОВ Алексей Александрович, доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

ШВАРЦ Юрий Григорьевич, доктор медицинских наук, профессор, кафедра факультетской терапии лечебного факультета ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, заведующий кафедрой

КОНСТАНТИНОВ Дмитрий Юрьевич, доктор медицинских наук, доцент, кафедра инфекционных болезней с эпидемиологией ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, заведующий кафедрой

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Воронеж

Защита состоится « ____ » сентября 2024 г. в ____ часов на заседании совета 21.2.003.01 по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук при ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России (414000, Россия, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБОУ ВО Астраханского ГМУ Минздрава России <http://astgmu.ru/>

Автореферат разослан « ____ » _____ 2024 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета
к.м.н., доцент

Севостьянова Ирина Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В 2020 году количество больных с пневмонией резко возросло за счет появления нового штамма коронавируса, обусловив развитие затяжной пандемии. ВОЗ присвоила официальное название инфекции COVID-19 («Coronavirus disease 2019»). Международный комитет по таксономии вирусов присвоил возбудителю название SARS-CoV-2. С самого начала эпидемии COVID-19 лица старших возрастных групп были отнесены к высокому риску тяжелого течения и летального исхода по данным многочисленных отечественных и зарубежных исследований [Даутова, Т.А., 2022; Najjar-Debbiny R., 2023].

Уязвимость данной категории пациентов обусловлена целым рядом факторов, среди которых наличие большого количества коморбидной патологии и сниженная функция иммунной системы [Дворецкий Л.И., 2022]. Среди пациентов пожилого возраста регистрировался не только самый высокий процент тяжелого течения и летального исхода при COVID-19, но и самый высокий процент пациентов, нуждающихся в госпитализации в стационар, что в свою очередь значительно увеличило нагрузку на систему здравоохранения [Ren J., 2022].

Степень разработанности темы исследования

За время борьбы с эпидемией COVID-19 большие усилия были направлены на изучение патогенетических механизмов, лежащих в основе COVID-19. Как известно, исследование молекулярных механизмов запрограммированной гибели клетки является важным и актуальным аспектом в клинике внутренних болезней. В период эпидемии COVID-19 внимание большого числа исследований сфокусировано на изучении апоптоза, как одном из патогенетических механизмов, который задействован еще на этапе заражения коронавирусом SARS-CoV-2 [André S., 2022; Li F., 2021].

Связь между апоптозом и вирусами очень сложная. Для некоторых вирусов ингибирование апоптоза клетки-хозяина может увеличить время репликации в клетке, а быстрая ги-

бель клетки может снизить уровень репликации. Вирусы могут изменять нормальный процесс апоптоза в клетках-хозяевах путем аномальной активизации или подавления регуляции [Cardozo С. М., 2021].

Известно, что выраженность апоптоза может быть потенциальным предиктором тяжести течения и исхода у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2 [André S., 2022]. Также активно исследуется возможная перспектива воздействия на пути, индуцированного вирусом апоптоза в аспекте лечения вирусной инфекции SARS-CoV-2 [Ashkenazi A., 2017].

Важно отметить, что регуляция апоптоза – это сложный и многогранный механизм и, несмотря на накопленную базу знаний об апоптозе, его стимулах и путях реализации, до сих пор остается больше вопросов, чем ответов. Неотъемлемая вовлеченность апоптоза в рост и развитие организма во время его жизнедеятельности в норме, с одной стороны, и участие в старении и развитии патологических состояний и заболеваний с другой стороны делает его перспективным объектом внимания для современной медицины.

Цель исследования. Улучшение прогнозирования риска неблагоприятного исхода у пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2.

Задачи исследования

1. Определить уровни белков P53 и BCL-2 в зависимости от ряда клинико-демографических и инструментальных данных исследования у пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, при поступлении в стационар.

2. Выявить и проанализировать наличие взаимосвязей уровней маркеров апоптоза (P53 и BCL-2) с уровнями маркеров воспаления (С-реактивным белком (СРБ), прокальцитонин) и уровнем сатурации (SpO₂) у пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, при поступлении в стационар.

3. Провести анализ уровней белков P53 и BCL-2 в зависимости от степени дыхательной недостаточности (ДН), по-

ражения легких по данным компьютерной томографии органов грудной клетки (КТ ОГК) и количества коморбидных заболеваний у пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, с благоприятным исходом в динамике.

4. Определить пороговые уровни белков P53 и BCL-2 и их прогностическую значимость у пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, при неблагоприятном исходе заболевания.

5. Спрогнозировать вероятность риска неблагоприятного исхода у пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, в зависимости от значений предикторов – уровней маркеров апоптоза (P53 и BCL-2), количества коморбидных заболеваний и степени ДН на основе построения дерева классификации (методом CHAID).

Научная новизна исследования

Определены уровни белков P53 и BCL-2 у пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, находившихся на стационарном лечении в зависимости от пола, степени ДН и количества коморбидных заболеваний в динамике.

Выявлено наличие взаимосвязей уровней белков P53 и BCL-2 с уровнями маркеров воспаления (С-реактивным белком, прокальцитонин) и уровнем сатурации (SpO_2) у пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, при поступлении в стационар.

Установлены пороговые значения уровней белков P53 и BCL-2 у пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, находившихся на стационарном лечении в зависимости от исхода заболевания.

Теоретическая и практическая значимость работы

Выявлены взаимосвязи между уровнями белков P53 и BCL-2 и СРБ, прокальцитонин и SpO_2 и установлена зависимость уровней изучаемых белков P53 и BCL-2 от пола, степени ДН и количества коморбидных заболеваний у пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2.

Разработано и внедрено в клиническую практику количественное определение уровней белков P53 и BCL-2 в сыворотке крови на основе иммуноферментного анализа у пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2. С целью персонализированной стратификации риска неблагоприятного исхода определены пороговые значения уровней белков P53 и BCL-2 у пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, при неблагоприятном исходе заболевания.

Определена совместная прогностическая значимость пороговых значений уровней белков P53 и BCL-2 у пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, при неблагоприятном исходе заболевания. Разработано дерево классификации вероятности риска неблагоприятного исхода заболевания у пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, в зависимости от значений следующих предикторов: пороговые уровни белков P53 и BCL-2, степени ДН и количества коморбидных заболеваний.

Основные положения, выносимые на защиту:

У пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, выявлено наличие зависимости уровней белков P53 и BCL-2 от степени ДН, изменений на КТ ОГК, количества коморбидных заболеваний и гендерной принадлежности пациентов при поступлении в стационар.

Обнаружено наличие взаимосвязей уровней белков P53 и BCL-2 с уровнями СРБ, прокальцитонина и значением сатурации (SpO_2) у пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, при поступлении в стационар.

У пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, при выписке из стационара после проведенного лечения наблюдается статистически значимое ($p < 0,001$) снижение уровней белков P53, BCL-2 по сравнению с их значениями при поступлении.

Более чем у половины пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, уровни белков P53 (у 57,1%) и BCL-2 (у 61,2%) не достигают при выписке из ста-

ционара значений уровней интерквартильных размахов изучаемых белков у пожилых лиц без вирусной пневмонии.

Среди пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, с уровнями белков P53, BCL-2 выше значений пожилых без вирусной пневмонии наиболее регистрируется наличие ДН II, КТ₂ и трех и более коморбидных заболеваний.

Установлено по результатам проведенного ROC-анализа пороговое значение уровней P53 и BCL-2 в точке cut-off – 99,3 пг/мл и 78,9 МЕ/мл соответственно для персонализированного прогноза неблагоприятного исхода заболевания у пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2.

Разработанное дерево классификации на основе учета следующих предикторов – пороговые уровни белков P53 и BCL-2, количество коморбидных заболеваний и степень ДН – позволяет с высокой прогностической значимостью (чувствительность 66,7%, специфичность 91,8%) выделять пациентов с высоким риском неблагоприятного исхода заболевания среди пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2.

Методология и методы исследования

Выборка основной группы пациентов в диссертационной работе проводилась из поступивших пациентов в инфекционный госпиталь, развернутый на базе ГБУЗ АО «Александро-Мариинская областная клиническая больница» г. Астрахань в период декабрь 2021 года – март 2022 года с верифицированным диагнозом «COVID-19, вирус идентифицирован». Клиническое исследование имело вид проспективно-динамического и контролируемого. В качестве группы контроля были обследованы лица пожилого возраста без вирусной пневмонии, проходившие диспансеризацию в поликлиниках г. Астрахани в соответствии с приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 03.02.2015 №36ан «Об утверждении порядка проведения диспансеризации определенных групп взрослого населения».

Для формирования основной группы и группы контроля были разработаны методы включения и исключения. Исследование проводилось в девять этапов. Включало в себя общепринятые стандартные методы обследования и специальные. Анализ данных производился с помощью современных методов статистически с использованием программ StatTech v. 2.8.8 (разработчик – ООО «Статтех», Россия) и SPSS, версия 26.0. (США).

Степень достоверности и апробация работы

Достоверность полученных результатов исследования подтверждается достаточным количеством обследуемых лиц, включенных в исследование, соответствием дизайна проводимого исследования его цели и задачам, применением информативных общеклинических и специальных методов исследования и современных статистических методов анализа данных. Полученные в исследовании результаты были сопоставлены с результатами проведенных исследований других авторов. Сформулированные в диссертационном исследовании научные положения, выводы и практические рекомендации основаны на данных полученных в результате собственных исследований.

Материалы диссертационного исследования доложены и обсуждены на X Международной научно-практической конференции (НПК) Прикаспийских государств «Актуальные вопросы современной медицины» (Астрахань, 2024), на XII Международной НПК «Актуальные вопросы современной науки» (Пенза, 2024), на III Международной НПК «Новое время – новые исследования» (Петрозаводск, 2024), на IX Всероссийской НПК «Инновационное развитие современной науки: теория, методология, практика» (Петрозаводск, 2024) и обсуждены на межкафедральном заседании ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России.

Внедрение результатов исследования

Основные положения и результаты проведенного клинического исследования внедрены в практику ГБУЗ АО «Областная инфекционная клиническая больница им. А.М. Ничо-

ги». Материалы диссертации используются в учебном процессе на кафедрах инфекционных болезней и эпидемиологии, и внутренних болезней педиатрического факультета ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России.

Личный вклад

Диссертант принимал личное участие на всех этапах представленного исследования. Вместе с научным руководителем была запланирована научная работа, сформулированы - цель, задачи, определены параметры дизайна. Диссертант принимал непосредственное участие в сборе клинических данных, формировании групп сравнения и проведении клинических исследований. Диссертант лично выполнил статистическую обработку полученных данных, принимал непосредственное участие в написании статей и тезисов.

Связь с планом научных исследований

Диссертация выполнена в соответствии с планом ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России в рамках комплексной научной работы «Пневмония, ассоциированная с коронавирусной инфекцией у взрослых и детей: прогнозирование течения и исход заболевания».

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 3.1.18. Внутренние болезни. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования данной специальности, пунктам 1-3.

Публикации

По теме диссертационного исследования опубликовано 8 научных работ, из них 3 статьи – в журналах, рецензируемых Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования России.

Объем и структура диссертации

Диссертационное исследование изложено на 137 страницах машинописного текста. Состоит из: введения, обзора литературы, методов исследования, 5 глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов и практических рекомендаций. Список литературы включает 85 отечественных и 177 иностранных источников. Работа про-

иллюстрирована 17 таблицами, 38 рисунками и 2-мя клиническими примерами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Всего было обследовано 80 пациентов пожилого возраста согласно классификации ВОЗ. Разделенных на две группы – основная (n=67) и группа сравнения (n=20). В основную группу были включены пожилые пациенты с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, госпитализированных с диагнозом «COVID-19, вирус идентифицирован» в инфекционный госпиталь в период декабрь 2021 года – март 2022 года. В группу сравнения были включены лица пожилого возраста без вирусной пневмонии, проходившие диспансеризацию в поликлиниках г. Астрахани.

Критериям включения в исследования служили: возраст пациентов – пациенты пожилого возраста (60-74 года, согласно классификации возрастов, принятой ВОЗ); диагноз при госпитализации «COVID-19, вирус идентифицирован». Критериями исключения из исследования были: наличие в анамнезе онкопатологии; хроническая обструктивная болезнь легких; сахарный диабет (СД) 1 типа; табакокурение.

У пациентов основной и группы сравнения, отобранных для исследования, анализировалось наличие коморбидных заболеваний с нозологической их формой и с учетом данных отечественной и зарубежной литературы, влияющей на стратификацию риска степени тяжести и исхода заболевания у пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, среди которых: СД 2 типа, хроническая болезнь почек, артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, хроническая сердечная недостаточность, ожирение, гепатит/цирроз и цереброваскулярная болезни.

У 100% обследуемых было зарегистрировано наличие коморбидных заболеваний. Пациенты в зависимости от количества коморбидных заболеваний были разделены на две подгруппы с двумя и менее коморбидными заболеваниями и

с тремя и более коморбидными заболеваниями. Группа сравнения была сопоставима с основной группой по возрасту, полу и количеству коморбидных заболеваний.

Длительность госпитализации в основной группе пациентов составила 17 [12-22] койко-дней. В основной группе пациентов с ДН I степени было 28 чел., с ДН II степени – 31 чел., с ДН III степени – 8 чел.; пациентов с КТ₂ – 10 чел., КТ₃ – 44 чел. и КТ₄ – 13 чел.

Маркеры апоптоза P53 и BCL-2 определяли методом иммуноферментного анализа в сыворотке крови с помощью тест-систем фирмы «Blue Gene Biotech», Китай и «Bender Med Systems», Австрия. Забор сыворотки и определение уровней белков P53 и BCL-2 проводили дважды при поступлении в стационар и при выписке.

Статистический анализ проводился с использованием программ StatTech v. 2.8.8 (ООО «Статтех», Россия) и SPSS версия 26.0 (США).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Анализ уровней маркеров апоптоза P53 и BCL-2 в основной группе при поступлении в стационар показал, что их уровни были статистически значимо выше, чем в группе сравнения. Так, уровень белка P53 в основной группе составил 94,3 [82,4-133,8] пг/мл, что было статистически значимо выше, чем в группе сравнения, где уровень белка P53 составил 20,2 [16,1-24,8] пг/мл. Уровень белка BCL-2 в основной группе составил 66,7 [56,1-79,7] МЕ/мл, что было статистически значимо выше по сравнению с группой сравнения ($p < 0,001$), где уровень белка BCL-2 составил 27,8 [22,6-32,5] МЕ/мл.

Статистически значимые различия установлены в основной группе при анализе уровня P53 и BCL-2 в зависимости от степени ДН, от количества коморбидных заболеваний (табл. 1).

Таблица 1 – Уровни белка P53 и BCL-2 в основной группе в зависимости от степени ДН

Степень ДН	Me	Q ₁ -Q ₃	p
P53, ПГ/МЛ			
ДН I, n=28	85,3	71,7-93,2	<0,001* ДН II – ДН I =0,006** ДН III – ДН I <0,001**
ДН II, n=31	116,3	88,8-146,9	
ДН III, n=8	128,9	122,0-162,1	
BCL-2, МЕ/МЛ			
ДН I, n=28	57,0	48,7-61,5	<0,001* ДН II – ДН I <0,001** ДН III – ДН I <0,001** ДН III – ДН II =0,007**
ДН II, n=31	76,1	68,7-80,8	
ДН III, n=8	89,7	88,5-91,4	

*Примечание: * - различия статистически значимы; ** - различия статистически значимы по данным апостериорного сравнения.*

У пациентов с тремя и более коморбидными заболеваниями уровень белка P53 составил 119,4 [91,0-158,4] пг/мл, что было статистически значимо выше, чем у пациентов с двумя и менее коморбидными заболеваниями, где уровень белка P53 составил 89,5 [79,8-120,5] пг/мл (p=0,022).

Уровень BCL-2 у пациентов с тремя и более коморбидными заболеваниями составил 78,9 [60,6-86,8] МЕ/мл, что статистически значимо выше (p=0,031), чем у пациентов с двумя и менее коморбидными заболеваниями, где уровень белка BCL-2 составил 62,2 [53,6-78,2] МЕ/мл.

Статистически значимых различий при анализе уровня белка P53 и белка BCL-2 в зависимости от степени изменений на КТ ОГК отмечено не было (p=0,069, p=0,072) (табл. 2).

Проведенный корреляционный анализ показал наличие статистически значимых взаимосвязей уровней белка P53 и BCL-2 с уровнями СРБ, прокальцитонина и сатурации у пациентов в основной группе разного направления и тесноты связи по шкале Чеддока.

Таблица 2 – Уровни белка P53 и BCL-2 в основной группе в зависимости от степени изменений на КТ ОГК

Степень изменений на КТ ОГК	Me	Q ₁ -Q ₃	p
P53, пг/мл			
КТ ₂ , n=10	89,3	80,2-97,3	0,069
КТ ₃ , n=44	91,4	81,0-125,7	
КТ ₄ , n=13	128,3	99,3-135,6	
BCL-2, ME/мл			
КТ ₂ , n=10	58,4	52,5-62,5	0,072
КТ ₃ , n=44	68,7	59,0-79,6	
КТ ₄ , n=13	78,3	55,8-86,3	

*Примечание: * - различия статистически значимы; ** - различия статистически значимы по данным апостериорного сравнения.*

Были получены следующие корреляционные зависимости уровня белка P53:

- с уровнем СРБ взаимосвязь была прямой, заметной тесноты по шкале Чеддока ($\rho=0,57$; $p<0,001$);
- с уровнем прокальцитонина взаимосвязь прямой, заметной тесноты по шкале Чеддока ($\rho=-0,60$; $p<0,001$);
- с уровнем сатурации взаимосвязь была обратной, умеренной тесноты по шкале Чеддока ($\rho=0,54$; $p<0,001$).

Уровня белка BCL-2:

- с уровнем СРБ взаимосвязь была прямой, заметной тесноты по шкале Чеддока ($\rho=-0,55$; $p<0,001$);
- с уровнем прокальцитонина взаимосвязь прямой, умеренной тесноты по шкале Чеддока ($\rho=0,56$; $p<0,001$);
- с уровнем сатурации взаимосвязь была обратной, заметной тесноты по шкале Чеддока ($\rho=0,66$; $p<0,001$).

Был проведен анализ наличия и силы взаимосвязей между уровнем белка P53 и BCL-2 – значение коэффициента ранговой корреляции Спирмена (ρ) при проведении корреляционного анализа составило 0,66, теснота связи по шкале Чеддока была заметная, взаимосвязь прямая, статистически значимая ($p<0,001$).

Пациенты основной группы в зависимости от исхода заболевания были разделены на две подгруппы: с благоприятным исходом, которые были выписаны из инфекционного госпиталя (n=49), и лица, у которых был зарегистрирован неблагоприятный (летальный) исход (n=18).

Уровни изучаемых белков в зависимости от степени ДН и поражения легких на КТ ОГК представлены в табл. 3 и 4.

Таблица 3 – Уровни белка P53 и BCL-2 в зависимости от степени ДН у пациентов с благоприятным исходом

Степень ДН	Me	Q ₁ -Q ₃	P
P53, ПГ/МЛ			
ДН 0, n=16	24,7	20,9-29,7	0,002* ДН II – ДН 0=0,001** ДН II – ДН I =0,007**
ДН I, n=28	25,1	23,1-34,3	
ДН II, n=5	54,2	49,5-59,1	
BCL-2, МЕ/МЛ			
ДН0, n=16	30,5	28,1-35,9	0,002* ДН II – ДН 0 = 0,002** ДН II – ДН I = 0,002**
ДН I, n=28	34,5	28,4-36,1	
ДН II, n=5	42,6	39,2-45,6	

Примечание: *- различия статистически значимы; ** - различия статистически значимы по данным апостериорного сравнения.

Таблица 4 – Уровни белка P53 и BCL-2 в зависимости от степени изменений на КТ у пациентов с благоприятным исходом

Степень изменений на КТ	Me	Q ₁ -Q ₃	p
P53, ПГ/МЛ			
КТ ₀ , n=3	24,7	23,2-28,6	0,540
КТ ₁ , n=25	24,6	22,5-34,4	
КТ ₂ , n=21	32,1	22,3-41,1	
BCL-2, МЕ/МЛ			
КТ ₂ , n=10	28,6	27,2-30,7	0,294
КТ ₃ , n=44	35,1	28,9-36,9	
КТ ₄ , n=13	35,4	27,6-36,7	

Примечание: *- различия статистически значимы; ** - различия статистически значимы по данным апостериорного сравнения.

По результатам анализа уровней белка P53 и BCL-2 в зависимости от степени изменений на КТ ОГК было установлено, что у пациентов с большей степенью поражения легких уровень белка P53 был выше, чем у пациентов с меньшей степенью поражения легких, но без статистически значимых различий.

У пациентов с тремя и более коморбидными заболеваниями уровень белка P53 составил 35,6 [29,0-44,4] пг/мл, что статистически значимо выше, чем у пациентов с двумя и менее коморбидными заболеваниями, где уровень белка P53 составил 24,8 [22,3-33,1] пг/мл, ($p=0,036$). Уровень белка BCL-2 у пациентов основной группы с тремя и более коморбидными заболеваниями составил 34,0 [28,6-36,0] МЕ/мл, что статистически значимо выше, чем у пациентов с двумя и менее коморбидными заболеваниями, где уровень белка BCL-2 составил 37,8 [29,8-41,2] МЕ/мл, ($p=0,044$).

Согласно результатам проведенного анализа динамики уровня белка P53, у пациентов основной группы было выявлено его статистически значимое снижение ($p<0,001$). Уровень белка P53 при поступлении в стационар составил 89,4 [79,1-118,5] пг/мл против 26,6 [22,4-35,6] пг/мл при выписке. Снижение уровня белка P53 у пациентов основной группы при выписке было зарегистрировано у 100% пациентов. У 57,1% (28 чел.) пациентов основной группы значение уровня белка P53 было выше, чем в группе сравнения, где уровень белка P53 составил 20,2 [16,1-24,8] пг/мл. У 42,9% (21 чел.) значение уровня белка P53 у пациентов основной группы при выписке совпадало с интерквартильными размахами группы сравнения.

Анализ процентной доли пациентов с уровнем белка P53 при выписке выше значений интерквартильных размахов группы сравнения с учетом всех пациентов с изучаемым показателем в основной группе ($n=49$) показал, что значение уровня белка P53 в основной группе выше значений интерквартильных размахов группы сравнения наблюдалось среди пациентов с ДН 0 – у 47,1%, с ДН I у – 55,6% и у 100% с ДН

II. Кроме того, значение уровня белка P53 в основной группе при выписке выше значений интерквартильных размахов группы сравнения наблюдалось среди пациентов с КТ₀ у – 33,3%, с КТ₁ у – 48% и у 71,4% с КТ₂, а также среди пациентов с двумя и менее коморбидными заболеваниями - у 50 % и у 81,8% пациентов с тремя и более коморбидными заболеваниями.

При анализе динамики уровня белка BCL-2 у пациентов основной группы было выявлено его статистически значимое снижение ($p < 0,001$). Уровень белка BCL-2 при поступлении составил 62,1 [53,7-76,1] МЕ/мл против 34,6 [28,6-36,7] МЕ/мл при выписке. Снижение уровня белка BCL-2 в основной группе при выписке было зарегистрировано у 100% пациентов. При этом у 61,2% (30 чел.) основной группы значение уровня белка BCL-2 при выписке было выше, чем в группе сравнения, где уровень белка BCL-2 составил 27,8 [22,6 – 32,5] МЕ/мл. У 38,8% (19 чел.) основной группы значение уровня белка BCL-2 при выписке совпадало с интерквартильными размахами группы сравнения.

Анализ процентной доли пациентов с уровнем белка BCL-2 при выписке выше значений интерквартильных размахов группы сравнения с учетом всех пациентов с изучаемым показателем в основной группе ($n=49$) показал, что значение уровня белка BCL-2 в основной группе выше значений интерквартильных размахов группы сравнения наблюдалось среди пациентов с ДН 0 – у 41,2%, с ДН I у – 66,7% и у 100% с ДН II. Кроме того, значение уровня белка BCL-2 в основной группе при выписке выше значений интерквартильных размахов группы сравнения наблюдалось среди пациентов с КТ₀ у – 33,3%, с КТ₁ у – 64% и у 61,9% с КТ₂, а также среди пациентов с двумя и менее коморбидными заболеваниями – у 60,53 % и у 63,64% пациентов с тремя и более коморбидными заболеваниями.

При сравнении уровня P53 в зависимости от исхода заболевания были получены статистически значимых различий. Уровень P53 среди пациентов с благоприятным исходом со-

ставил 89,4 [79,1-118,5] пг/мл, что статистически значимо выше по сравнению с пациентами с летальным исходом, где уровень P53 составил 135,1 [103,5–160,9] пг/мл ($p < 0,001$) (рис. 1).

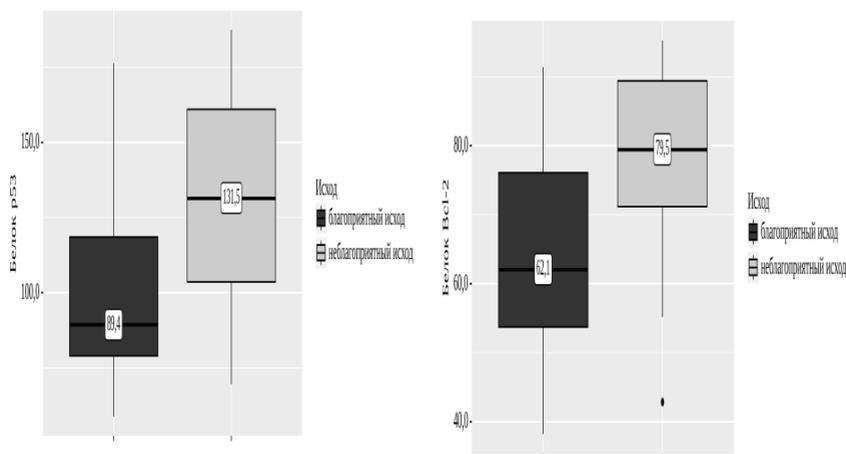


Рисунок 1 – Уровень P53 и BCL-2 у обследуемых пациентов в зависимости от исхода заболевания

Уровень BCL-2 среди пациентов с благоприятным исходом составил 62,1 [53,7-76,1] МЕ/мл, что статистически значимо выше по сравнению с неблагоприятным исходом, где уровень P53 составил 79,5 [71,2-89,4] МЕ/мл ($p = 0,002$).

Пороговое значение уровня P53 в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 99,3 пг/мл. Неблагоприятный исход прогнозировался при P53 выше данной величины или равном ей. Площадь под ROC-кривой составила $0,760 \pm 0,072$ с 95% ДИ: 0,619-0,901. Полученная модель была статистически значимой ($p = 0,001$), чувствительность 72,2%, специфичность 71,4%.

Пороговое значение уровня белка BCL-2 в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 78,9 МЕ/мл. Неблагоприятный исход

прогнозировался при значении уровня белка BCL-2 выше данной величины или равном ей. Площадь под ROC-кривой составила $0,752 \pm 0,073$ с 95% ДИ: $0,609-0,894$. Полученная модель была статистически значимой ($p=0,002$), чувствительность 66,7%, специфичность 79,6%.

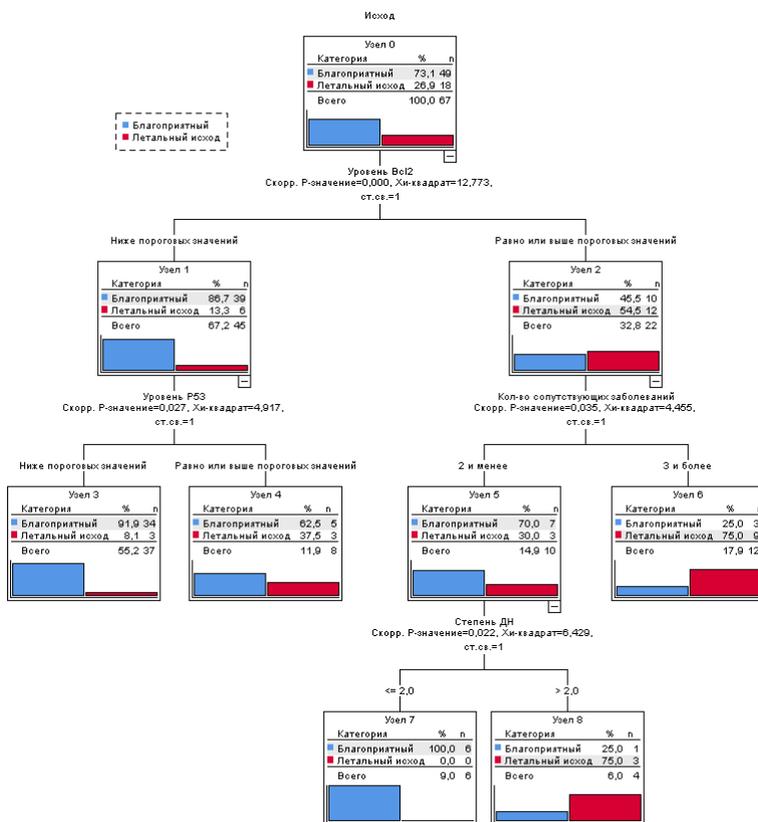


Рисунок 2 – Дерево классификации исследуемых по риску неблагоприятного (летального) исхода в зависимости от значений предикторов – пороговых уровней маркеров апоптоза, количества коморбидной патологии и степени ДН

Полученные пороговые уровни маркеров апоптоза P53 и BCL-2 были переведены в бинарные значения (ниже порогового значения/выше или равно пороговым значениям) и включены для анализа в качестве предикторов неблагоприятного исхода у пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2 для построения дерева классификации (методом CHAID) (рис. 2).

Также в дерево классификации вошли следующие предикторы неблагоприятного исхода: пороговые уровни маркеров апоптоза, количество коморбидной патологии и степень ДН.

Терминальные узлы 6 и 8 были отнесены к категории высокого риска неблагоприятного исхода.

Так как на терминальном узле 3 неблагоприятный исход в этой подгруппе наблюдался у 8,1%, а на 7 терминальном узле не было ни одного случая неблагоприятного исхода, они были отнесены к категории низкого риска неблагоприятного исхода.

Чувствительность полученной модели составила 66,7%, специфичность – 91,8%. Общая доля верных прогнозов среди исследуемых данной выборки составила 85,1%. Модель была статистически значимой ($p=0,044$).

В результате проведенного анализа были выделено 5 окончательных решений (терминальных узлов):

узел 6 – у пациентов с уровнем BCL-2 равным или выше пороговых значений и количеством коморбидных заболеваний более или равно 3 вероятность неблагоприятного исхода в 2,8 раза (индекс 279,2%) превышала таковую в общей выборке. Неблагоприятный исход в этой подгруппе наблюдался у 75,0%;

узел 8 – у пациентов с уровнем BCL-2 равным или выше пороговых значений, количеством коморбидных заболеваний менее или равным 2, ДН III степени вероятность неблагоприятного исхода также в 2,8 раза (индекс 279,2%) превышала таковую в общей выборке. Неблагоприятный исход в этой подгруппе наблюдался у 75,0%;

узел 4 – у пациентов с уровнем BCL-2 ниже пороговых значений и уровнем P53 равным или выше пороговых значений вероятность неблагоприятного исхода в 1,4 раза (индекс 139,6%) превышала таковую в общей выборке. Неблагоприятный исход в этой подгруппе наблюдался у 37,5%;

узел 3 – у пациентов с уровнем BCL-2 ниже пороговых значений и уровнем P53 ниже пороговых значений вероятность неблагоприятного исхода в 0,3 раза (индекс 30,2%) превышала таковую в общей выборке. Неблагоприятный исход в этой подгруппе наблюдался у 8,1%;

узел 7 – у пациентов с уровнем BCL-2 при поступлении равным или выше пороговых значений, количеством коморбидных заболеваний менее или равным 2 и степенью ДН I-II не было ни одного случая неблагоприятного исхода.

ВЫВОДЫ

1. Выявлено, что уровень маркеров апоптоза белков P53, BCL-2 у пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, находившихся на стационарном лечении при поступлении статистически значимо выше ($p < 0,001$), чем у лиц пожилого возраста без COVID-19. Установлена зависимость уровней белков P53 и BCL-2 от степени ДН, от степени изменений на КТ ОГК, от количества коморбидных заболеваний и гендерной принадлежности пациентов.

2. Корреляционный анализ показал наличие статистически значимых взаимосвязей уровней белков P53 и BCL-2 с уровнями СРБ, прокальцитонина и значением сатурации (SpO_2) у пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, при поступлении в стационар. Наибольшая теснота взаимосвязей была выявлена между уровнями изучаемых белков и значениями сатурации (SpO_2) и уровнями СРБ. Прямая взаимосвязь заметной тесноты связи по шкале Чеддока была выявлена между уровнем белка P53 и BCL-2.

3. Выявлено статистически значимое ($p < 0,001$) снижение уровней белков P53, BCL-2 у пожилых пациентов с вирусной

пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, при выписке из стационара по сравнению с их значениями при поступлении. При этом уровень белка P53 у 57,1% и уровень белка BCL-2 у 61,2% среди пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, при выписке из стационара не достигали уровней изучаемых белков у пожилых лиц без вирусной пневмонии. Процентная доля пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, у которых уровни белков P53 и BCL-2 при выписке из стационара были выше интерперцентильных размахов пожилых лиц без вирусной пневмонии, была больше среди пациентов с ДН II, с КТ₂ и среди пациентов с тремя и более коморбидными заболеваниями.

4. По данным ROC-анализа пороговое значение уровня белка P53 определяющие риск неблагоприятного исхода в точке cut-off составило 99,3 пг/мл (чувствительность 77,8%, специфичность 69,4%) и 78,9 МЕ/мл для белка BCL-2 (чувствительность 66,7%, специфичность 79,6%).

5. Разработано дерево классификации (методом CHAID) по риску летального исхода пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, в зависимости от следующих предикторов: пороговые уровни белков P53 и BCL-2, количество коморбидных заболеваний и степень ДН. Чувствительность полученной модели составила 66,7%, специфичность – 91,8%. Общая доля верных прогнозов среди исследуемых данной выборки составила 85,1%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для оценки выраженности апоптотического процесса у пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2 рекомендовать исследование уровней маркеров апоптоза (P53 и BCL-2) в динамике.

2. Рекомендовать исследование маркеров апоптоза (P53 и BCL-2) у пожилых пациентов с COVID-19 ассоциированной пневмонией для формирования группы риска неблагоприятного исхода для разработки профилактических мер.

3. Рекомендовать в лабораторную и клиническую практику использовать пороговые значения уровней P53 и BCL-2, определяющие риск неблагоприятного исхода: P53 – 99,3 пг/мл и BCL-2 – 78,9 МЕ/мл у пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2.

4. Рекомендовать использовать полученное дерево классификации (методом CHAID), позволяющее определять вероятность наступления неблагоприятного исхода у пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, на стационарном этапе.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Прогностическая значимость исследования уровней маркеров апоптоза P53 и BCL-2 у пациентов пожилого возраста с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2 / К.А. Хутаева, А.А. Демидов // **Вестник современной клинической медицины.** – 2023. – Т.16, вып.4. – С. 71-77.

2. Оценка уровня белка P53 у пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2, при выписке из стационара / К.А. Хутаева, А.А. Демидов // **Забайкальский медицинский вестник.** – 2023. – № 3. – С. 58-67.

3. Уровень белка BCL-2 у пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2 при выписке в зависимости от степени дыхательной недостаточности, степени поражения легких по данным компьютерной томографии и количества коморбидных заболеваний / К.А. Хутаева, А.А. Демидов // **Вестник новых медицинских технологий.** – 2024. – Т. 31, № 1. – С. 19-23.

4. Клинико-прогностическое значение исследования маркеров апоптоза – P53 и BCL-2 при пневмонии, вызванной SARS-CoV-2 у пожилых пациентов / К.А. Хутаева, А.А. Демидов // **Материалы X Международной НПК Прикаспийских государств «Актуальные вопросы современной медицины».** – Астрахань, 2024.

5. Взаимосвязи уровня белка P53 с уровнями С-реактивного белка, прокальцитонина и сатурации (SpO₂) у

пациентов пожилого возраста с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2 / К.А. Хутаева, А.А. Демидов // Материалы XII Международной НПК «Актуальные вопросы современной науки». – Пенза: МЦНС «Наука и Просвещение». – 2024. – С. 330-333.

6. Корреляционные связи уровня белка BCL-2 с уровнями С-реактивного белка, прокальцитонина и сатурации (SpO₂) у пожилых пациентов с вирусной пневмонией, вызванной SARS-CoV-2 / К.А. Хутаева, А.А. Демидов // Материалы III Международной НПК «Новое время – новые исследования». – Петрозаводск: МЦНП «НОВАЯ НАУКА», 2024. – С. 123-128.

7. Уровни белков маркеров апоптоза – P53 и BCL-2 у пожилых пациентов / К.А. Хутаева, А.А. Демидов // Материалы IX Всероссийской НПК «Новое время – новые исследования». – Петрозаводск: МЦНП «НОВАЯ НАУКА», 2024. – С. 130-134.

8. Маркеры апоптоза в прогнозировании течения COVID-19 ассоциированной пневмонии у пациентов пожилого возраста / К.А. Хутаева, А.А. Демидов // Учебное пособие. – Астрахань, 2024. – 49 с.

Список сокращений

АГ	артериальная гипертензия
ДН	дыхательная недостаточность
КТ ОГК	компьютерная томографии органов грудной клетки
НПК	научно-практическая конференция
СРБ	С-реактивный белок
BCL-2	В-клеточная лимфома 2
P53	белок p53

ХУТАЕВА КАРИНА АЛИЕВНА

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
МАРКЕРОВ АПОПТОЗА P53 И BCL-2 У ПОЖИЛЫХ
ПАЦИЕНТОВ С ВИРУСНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ,
ВЫЗВАННОЙ SARS-COV-2

3.1.18. Внутренние болезни

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации
на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Подписано в печать . . .2024

Тираж 100 экз. Заказ №

Издательство ФГБОУ ВО «Астраханский государственный
медицинский университет» Минздрава России
414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121