

**НАО «ЗАПАДНО-КАЗАХСТАНСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ МАРАТА ОСПАНОВА»**

**Аннотация на диссертационную работу  
на соискание степени  
доктора философии (PhD)**

**Анализ повреждений ДНК при ожирении и влияние метформина на  
двухцепочечные разрывы ДНК лимфоцитов крови**

специальность «6D110100-Медицина»

**КОСМУРАТОВА РАЙКУЛЬ НАСРЕДДИНОВНА**

**Научный консультант:**

профессор кафедры внутренних болезней №1  
ЗКМУ имени Марата Оспанова,  
к.м.н., асс.профессор

**Кудабаева Х.И.**

**Научный консультант:**

руководитель научно-практического центра  
д.м.н., доцент **Саханова С.К.**

**Зарубежные консультанты:**

MD, PhD, профессор **Гржибовский А.М.**  
Северный государственный медицинский университет,  
г.Архангельск РФ

к.м.н., доцент **Керимкулова А.С.**

Кыргызская государственная медицинская академия  
имени И.К. Ахунбаева, г. Бишкек, Кыргызстан

Республика Казахстан

Актобе, 2022

## АННОТАЦИЯ

**Космуратовой Райкуль Насреддиновны** на тему: «Анализ повреждений ДНК при ожирении и влияние метформина на двухцепочечные разрывы ДНК лимфоцитов крови», представленной на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности «6D110100-Медицина».

**Научный консультант:** к.м.н., ассоциированный профессор Кудабоева Х.И.

**Научный консультант:** д.м.н., ассоциированный профессор Саханова С.К.

**Зарубежные консультанты:** MD, PhD, профессор Гржибовский А.М.; к.м.н., доцент Керимкулова А.С.

## АКТУАЛЬНОСТЬ

Ожирение остается одной из актуальных проблем современного общества. Проблема ожирения остро стоит по всему миру и прогнозируется ее дальнейший рост. В условиях пандемии ожирения и осложнений, ассоциированных с ожирением, таких как, нарушения репродуктивной функции, заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), опорно-двигательного аппарата, патологии сердечно - сосудистой системы и многие виды рака, выросло целое поколение. На современном этапе ожирение представляет собой хроническое рецидивирующее и прогрессирующее заболевание, которое диктует необходимость предпринимать срочные меры по профилактике и контролю этой глобальной эпидемии.

Ожирение усугубляет течение многих хронических заболеваний и уменьшает продолжительность жизни населения. По мнению ряда ученых, ожирение увеличивает риск смерти от сердечных заболеваний в 4 раза и онкопатологии в 2 раза. В связи с этим, усовершенствование диагностических маркеров ожирения остается актуальной задачей медицины. Вместе с тем, необходим персонализированный подход не только в вопросах диагностики, но и разработки профилактических мер от осложнений избыточного веса и ожирения.

Исходя из вышеизложенного, особый интерес представляет анализ взаимосвязи между индексом массы тела (ИМТ) и повреждением дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Данные исследования являются новым уровнем изучения ожирения, результаты которых необходимы для разработки персонализированного подхода в диагностике и лечении данной патологии.

В доступной литературе нет единого мнения о взаимосвязи между избыточным весом и повреждением ДНК. Но имеются единичные результаты исследований, которые доказывают связь генетической нестабильности у людей с избыточной массой тела (МТ) и ожирением. В настоящее время применение молекулярно-генетических методов в диагностике находит широкое применение. Однако, касательно ожирения, отсутствует единое мнение, какие значения повышенной массы тела могут привести к нестабильности генома.

Актуальным остается вопрос поиска маркеров для раннего выявления повреждений ДНК и возможного риска развития новообразований. Вместе с тем известно, что фосфорилирование остатка Ser-139 гистонового варианта H<sub>2</sub>AХ, является ранним клеточным ответом на индукцию двухцепочечных разрывов ДНК. Обнаружение этого события является высокоспецифичным и чувствительным молекулярным маркером для мониторинга инициации и разрешения повреждения ДНК.

Кроме того, анализ очагов  $\gamma$ H2АХ имеет множество других применений в лабораторной диагностике, к примеру, исследования рака и старения, количественное определение очагов  $\gamma$ H2АХ также применяют в качестве полезного инструмента для оценки эффективности различных лекарственных средств.

Таким образом, для понимания роли влияния ИМТ на повреждения ДНК лимфоцитов крови будет интересным изучить двухцепочечные разрывы ДНК, а также провести анализ разрывов ДНК при применении метформина у пациентов с ожирением.

Возможность выделения группы риска по развитию эпигенетических механизмов, определение уровня двухцепочечных разрывов ДНК достоверно увеличит процент прогнозирования развития нестабильности генома, и в дальнейшем развитие онкопатологии. А это, в свою очередь, повысит эффективность терапии и позволит своевременно начать профилактику канцерогенеза у пациентов с ожирением.

Подобные исследования в Республике Казахстан не проводились, поэтому возникает необходимость изучения данной проблемы.

**Целью нашего исследования явилось** изучение взаимосвязи ожирения с двухцепочечными разрывами ДНК лимфоцитов крови и анализ влияния метформина на повреждение ДНК.

**Для достижения цели поставлены следующие задачи исследования**

1. Провести комплексную клиничко-лабораторную оценку избыточной массы тела и ожирения среди исследуемых в регионах Западного Казахстана.
2. Изучить уровень повреждения ДНК лимфоцитов крови в зависимости от индекса массы тела.
3. Провести анализ разрывов ДНК лимфоцитов крови при применении метформина у пациентов с ожирением.

**Научная новизна:**

1. Впервые в рамках исследования изучена взаимосвязь лептина и ИМТ у взрослого населения Западного региона Казахстана.
2. Впервые изучен уровень повреждения ДНК лимфоцитов крови с учетом индекса массы тела.
3. Впервые проведен анализ разрывов ДНК лимфоцитов при применении метформина у пациентов с ожирением.

4. Впервые определены рискованные факторы, влияющие на нестабильность ДНК при избыточной массе тела и ожирении.

### **Практическая значимость**

Результаты проведенного комплексного исследования научных данных о взаимосвязи повреждения ДНК лимфоцитов и ИМТ могут быть использованы для персонализированного раннего подхода диагностики целостности генома.

Мониторинг лептина и инсулинорезистентности может стать важной частью усовершенствования диагностики для раннего выявления риска развития предраковых изменений у пациентов с ожирением.

Результаты исследования могут быть использованы государственными органами при разработке стандартов и протоколов лечения для прогноза неблагоприятных исходов и осложнений у пациентов с ожирением.

### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. У взрослых среди исследуемых в Западном регионе Казахстана (Актюбинская и Западно-Казахстанская обл.) частота избыточного веса составила 48% при этом, у женщин чаще встречается ожирение (1,7 раз) и избыточная масса тела (2,4 раза).
2. Выявлена достоверная взаимосвязь между концентрацией лептина с ИМТ, с уровнем инсулина и индексом НОМА.
3. Анализ рисков повреждений ДНК дерево решений показал, что наличие одного из ключевых факторов «ИМТ  $\geq 39,4$ » и «Индекс талия/рост  $\geq 0,7$ » увеличивает уровень абсолютного риска по показателю «Клетки с очагами разрывов». Для показателя «Среднее количество очагов на одну клетку» тремя ключевыми статистически значимыми факторами развития риска являются «ИМТ, кг/м<sup>2</sup>  $\geq 39,4$ » и «HbA1C-Гликированный гемоглобин, %  $\geq 5,6$ »
4. Пероральное применение метформина в дозе 850 мг/сутки в течение 3-х месяцев у пациентов с ожирением (ИМТ более 30 кг/м<sup>2</sup>) приводит к уменьшению среднего количества разрывов ДНК на одну клетку и повышение уровня репарации.

**Апробация работы.** Основные положения диссертации доложены на расширенном заседании Научной проблемной комиссии «ЗКМУ имени Марата Оспанова». Результаты проведенного исследования доложены на научно-практических конференциях:

- The III international scientific and educational conference//Minerva medica//Aktobe, Kazakhstan, april 25-26, 2019.

-Международной научно-практической конференции «От научной идеи к командным проектам» (г.Актобе,25-26 октября 2019 г.), ЗКМУ имени Марата Оспанова.

- Materials of the International Conference “Science and innovations 2021: development directions and priorities” Australia, Melbourne, July 7, 2021.

- VI Международной научно-практической конференции прикаспийских государств «Актуальные вопросы современной медицины» (г.Астрахань, 7-8 октября 2021г.).

- LXI Международной научно-практической конференции молодых ученых «Наука: вчера, сегодня, завтра», посвященной 65-летию ЗКМУ имени Марата Оспанова (Актобе, 27 апреля 2022 г.).

**Публикации по теме диссертации.** По теме диссертации опубликовано 10 научных работ, из них 4 статьи в изданиях индексируемых в информационной базе Scopus; 2 статьи в журналах рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки РК; 1 статья в национальной информационно-аналитической системе – РИНЦ; 3 тезиса - в сборнике Международных научно-практических конференций. Все публикации написаны докторантом лично под руководством научных руководителей, которые консультировали и производили корректировку. Непосредственно докторантом проводился поиск и обзор литературных источников, набор больных в группы исследования. Статистическая обработка и анализ полученных результатов были проведены докторантом.

Исследование проведено в рамках:

1. НТП «Разработка научно-методологических основ минимизации экологической нагрузки, медицинского обеспечения, социальной защиты и оздоровления населения экологически неблагоприятных территорий Республики Казахстан», финансируемого МЗ РК на 2017 – 2019 гг. Регистрационный номер: 0117РК00026.

2. Внутривузовский грант регистрационный номер 0119РКИ0255 по теме «Молекулярно-генетические аспекты ожирения в казахской популяции» 2019-2021 гг.

**Результаты внедрения исследования в практическое здравоохранение и образовательный процесс:**

1) Полученные результаты исследования внедрены в практику отделения эндокринологии АМЦ и городских поликлиник г.Актобе ;

2) Интеллектуальная собственность - 2 авторских свидетельств;

3) Результаты исследования внедрены в учебную программу резидентуры на кафедре ВБ №1 по специальности: «Эндокринология взрослая, детская» ЗКМУ имени Марата Оспанова. Основные положения диссертационной работы используются в лекционном материале и при проведении практических занятий.

**Личный вклад автора.** Разработка целей и задач научных исследований, сбор и согласование данных клинических, лабораторных, молекулярных исследований, статистическая обработка результатов исследований, формулирование выводов и рекомендаций.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация состоит из содержания, списка сокращений и определений, введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения. Диссертация представлена на 107 страницах, иллюстрирована 42 таблицами и 53 рисунками. Список литературы содержит 197 источников, из них на английском языке - 187.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **Характеристика исследования.**

Научно – исследовательская работа одобрена биоэтическим комитетом при Западно - Казахстанском медицинском университете имени Марата Оспанова (протокол №17 от 09.04.2019г.).

### **Дизайн исследования**

**1 этап: Клинико-лабораторная характеристика избыточной массы тела и ожирения у взрослого населения Западного региона Казахстана.**

Данный этап исследования выполнен в рамках НТП «Разработка научно-методологических основ минимизации экологической нагрузки, медицинского обеспечения, социальной защиты и оздоровления населения экологически неблагоприятных территорий Республики Казахстан», финансируемого МЗ РК на 2017 – 2019 гг. (регистрационный номер: 0117РК00026).

Исследование проведено на территории Западного Казахстана (Актюбинская и Западно-Казахстанская областей). Критерии включения: возраст участников - от 18 лет; подписанное информированное согласие для участия в научном исследовании. Критерии исключения: наличие в анамнезе эндокринных заболеваний (сахарного диабета, заболеваний щитовидной железы и надпочечников), хронические декомпенсированные заболевания внутренних органов, беременность, лактация. Набор пациентов проводился методом случайной выборки с учетом возрастного-полового состава населения в публичных местах. Количество участников в исследовании составило 1200 человек.

### **2 этап: Ожирение и повреждения ДНК**

Исследование выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией в рамках внутривузовского гранта, регистрационный номер 0119РКИ0255 по теме «Молекулярно-генетические аспекты ожирения в казахской популяции». Одобрено Биоэтической комиссией ЗКМУ имени Марата Оспанова №17 от 09.04.2019 года. Исследование проведено в два этапа.

## *2.1 Исследование уровня повреждения ДНК лимфоцитов крови в зависимости от показателя ИМТ (одномоментное описательное исследование).*

Набор пациентов в исследование проведен в г.Актобе. Выборка сформирована с учетом возрастного-полового состава населения г. Актобе. Объем выборки составил 236 пациентов в возрасте от 18-60 лет, участниками подписано информированное согласие для участия в исследовании. Среди участников были исключены лица с хроническими декомпенсированными заболеваниями, беременностью, с вредными привычками (курящие, употребляющие наркотики, алкоголь).

Проведено изучение взаимосвязей ожирения с двухцепочечными разрывами ДНК лимфоцитов. Набор пациентов проводился методом случайной выборки с учетом возрастного-полового состава населения в публичных местах. Для отбора в исследования принимали участие волонтеры (резиденты), которые приглашали пациентов на исследование. С целью обеспечения репрезентативности генеральной совокупности рассчитан объем выборки с доверительным интервалом 95% ( $\alpha=5\%$ ). Объем выборки составил – 236 человек.

По параметрам роста и веса у участников исследования высчитывался ИМТ по формуле: вес (кг)/рост в  $m^2$ , согласно классификации ВОЗ.

Участники разделены на 5 групп: 1 группа – контрольная с ИМТ 18,5-24,9  $kg/m^2$  - нормальная масса, 2 группа – избыточная масса тела с ИМТ 25,0-29,9  $kg/m^2$ , 3 группа - с ИМТ 30,0-34,9  $kg/m^2$  - ожирение 1 степени, 4 группа - ИМТ 35,0-39,9  $kg/m^2$  - ожирение 2 степени, 5 группа с ИМТ  $\geq 40kg/m^2$  - ожирение 3 степени, в которых проведен матчнинг по возрасту, полу.

В каждой из пяти групп были проанализированы клетки с очагами разрывов, фокусы в целом, диаметр разрывов клеток, среднее количество очагов  $\gamma$ -H2AX на одну клетку, интенсивность окрашивания, процент позитивных клеток по двум каналам: FITC - разрывы и APC - репарация.

## *2.2 Анализ разрывов ДНК лимфоцитов при применении метформина у пациентов с ожирением (проспективное исследование).*

Добровольное согласие на участие в исследовании получено от 27 пациентов с ожирением в возрасте 18 – 60 лет. Среди участников были исключены лица с хроническими декомпенсированными заболеваниями, с вредными привычками (курящие, употребляющие наркотики, алкоголь), беременные, женщины в периоде лактации. Исследования показателей повреждения ДНК лимфоцитов проведено на базе Научно-практического центра (НПЦ) ЗКМУ имени Марата Оспанова.

С целью изучения динамики показателей двухцепочечных разрывов ДНК лимфоцитов крови пациентам назначался метформин. Участники исследования с ожирением в течение 3-х месяцев принимали препарат метформин в суточной дозе 850 мг. У данных лиц проведен анализ в динамике разрывов ДНК лимфоцитов до и после приема метформина.

### **Клинико - биохимические методы исследования.**

При проведении антропометрии были включены следующие параметры: вес (кг), рост (м), ИМТ кг/м<sup>2</sup>, объем талии (см), объем бедер (см).

Забор проб крови на лабораторные анализы проводили в утренние часы натощак. Концентрацию лептина нг/мл в сыворотке крови определяли при помощи метода ИФА - твердофазного иммуноферментного анализа. Оценка липидного статуса: общий ХС определяли энзиматическим (CHOD-PAP) методом. Уровень ЛПНП рассчитывали по формуле Фридвальда (с использованием концентрации общего холестерина, липопротеидов высокой плотности и триглицеридов). Для изучения ЛПВП применяли колориметрический метод. При оценке данных липидного профиля ориентировались на Рекомендации экспертов NCEP/ATPIII: за гиперхолестеринемию принимали уровень общего ХС > 5,2 ммоль/л, к гипертриглицеридемии относили уровень ТГ > 1,7 ммоль/л. Коэффициент атерогенности (КА) определяли согласно следующей формуле:  $КА = (ОХ - ЛПВП) : ЛПВП$ .

Определение глюкозы крови натощак производилось после 12-часового голодания. Глюкозу определяли фотометрическим методом (референтные значения 3,89-5,83), результаты оценивались в ммоль/л. Уровень инсулина в плазме крови натощак определяли методом иммуноанализа (референтные значения 2,7-29,1) при соблюдении внутреннего и внешнего контроля качества. Результаты оценивались в мкМЕ/мл. Индекс инсулинорезистентности (IR НОМА) рассчитывали по формуле:  $IR \text{ НОМА} = \text{глюкоза натощак} \times \text{инсулин натощак} / 22,5$ . В норме индекс НОМА не превышает 2,7.

#### *Анализ двухцепочечных разрывов ДНК лимфоцитов крови.*

С целью анализа разрывов ДНК лимфоцитов применялся непрямой иммунофлюоресцентный анализ для количественного определения фосфорилированного  $\gamma$ -H2AX (Ser 139) и 53BP1 на аппарате «AKLIDES» (Германия). Для оценки результатов проводится автоматический анализ носителей объекта при помощи системы AKLIDES® Nuk и соответствующего программного обеспечения. Анализ производится путем подсчета 100 клеток на место нанесения при помощи программного обеспечения, были оценены следующие показатели: клетки с очагами разрывов, фокусы в целом, диаметры разрывов клеток, среднее количество очагов  $\gamma$ -H2AX на одну клетку, интенсивность окрашивания, процент позитивных клеток.

### **Методы статистической обработки результатов исследования.**

Описательная статистика количественных переменных представлена в виде «M±S» - среднего со стандартным отклонением.

Непараметрический критерий Манна-Уитни использовался для сравнения двух групп по числовым переменным. Три и более группы сравнивались по методу Краскела-Уоллиса. Бинарные и номинальные показатели сравнивались между группами по критерию Пирсона Хи-квадрат.



Для анализа корреляций использовали метод Спирмена (ранговая корреляция).

Для построения моделей прогнозирования ключевых бинарных показателей применялось дерево классификаций. Метод позволяет оценить вероятность целевых событий в зависимости от соответствующих уровней независимых факторов, при этом сегментировать респондентов на рискованные классы. Качество полученных моделей оценивалось с помощью ROC-анализа. Уровень статистической достоверности считался при 0,05.

T-критерий Вилкоксона - непараметрический статистический тест (критерий), используемый для проверки различий между двумя выборками парных или независимых измерений по уровню какого-либо количественного признака, измеренного в непрерывной или в порядковой шкале. Суть метода состоит в том, что сопоставляются абсолютные величины выраженности сдвигов в том или ином направлении.

Отношения шансов с доверительным интервалом определяли с помощью программы Statresearch Exel, математический пакет R.

Статистическая обработка данных выполнена с помощью пакетов прикладных программ Statistica 10.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### **Клинико-лабораторная характеристика избыточной массы тела и ожирения у взрослого населения Западного региона Казахстана.**

Исследование проведено на территории Западного Казахстана (Актюбинская и Западно-Казахстанская областей). Критерии включения: взрослые в возрасте от 18 лет; документированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения: наличие в анамнезе эндокринных заболеваний (сахарного диабета, заболеваний щитовидной железы и надпочечников), хронические декомпенсированные заболевания внутренних органов, беременность, лактация. Набор пациентов проводился методом случайной выборки с учетом возрастного-полового состава населения в публичных местах. Общее количество участников в исследовании составило 1200 человек.

В нашем исследовании частота избыточного веса в Западном регионе Казахстана у взрослых составила 48%, из которых 25% составляет избыточная масса тела и 23% ожирение. У женщин чаще встречается ожирение (1,7 раз) и избыточная масса тела (2,4 раза).

Анализ распространенности ожирения и избыточной массы тела среди мужчин и женщин показал значимые различия между показателями. Избыточная МТ ( $70,37 \pm 3,16\%$ ) ( $p < 0.001; t = 7,02$ ) и ожирение ( $63,04 \pm 3,65\%$ ) ( $p < 0.001; t = 4,33$ ) отмечалось в большинстве у лиц женского пола, по сравнению с представителями мужского пола ( $29,63 \pm 4,86\%$  и  $36,96 \pm 4,77\%$  соответственно).

Динамика избыточной массы тела и ожирения с возрастом увеличивается достигая пика в интервале 50 – 60 далее идет снижение показателей индекса массы тела.

Далее проведен анализ уровня липидов крови в зависимости от веса обследуемых. При анализе данных содержание ОХ, ТГ, ЛПНП, коэффициента атерогенности - отмечается линейное увеличение с ростом массы тела, кроме ЛПВП, где отмечается закономерное снижение показателей.

### **Концентрация лептина в сыворотке крови в зависимости от ИМТ**

В нашем исследовании проведена оценка циркулирующего лептина в крови с учетом индекса массы тела, а также с данными липидного спектра и углеводного обмена.

Анализ взаимосвязи концентрации лептина с липидным профилем, углеводным обменом и антропометрическими данными с использованием коэффициента корреляции Спирмена показал, что имеется положительная связь с ИМТ ( $\rho=0,57^{**}$ ,  $p<0.01$ ), с уровнем инсулина ( $\rho=0,28^{**}$ ,  $p <0.01$ ) и индексом НОМА ( $\rho=0,21^*$ ,  $p <0.05$ ). Уровень лептина наиболее высокий при ожирении 3 степени.

Проведенный анализ содержания лептина сыворотки в зависимости от возраста между группами не имеет значимых различий ( $df=3$ ;  $p=2,32$ ).

Анализ значений содержания лептина в сыворотке показал значимые различия по полу. У женщин он составил 24,20 нг/мл, у мужчин - 12,89 нг/мл. В нашем исследовании статистически значимое различие сывороточной концентрации лептина обнаружено в исследуемой группе женщин по отношению к мужской группе ( $P < 0,0001$ ).

Сходные гендерные различия были выявлены в других работах, при этом также обнаружена положительная корреляция уровня лептина с ИМТ у обследованных обоих полов. Гендерные различия, по-видимому, обусловлены влиянием половых гормонов, принимающих участие в контроле секреции лептина и имеющих решающее влияние на активность нейрогуморальной жировой ткани.

Таким образом, в нашей работе содержание лептина в сыворотке коррелирует с ИМТ, наиболее высокие показатели отмечались при ИМТ  $\geq 40$  кг/м<sup>2</sup>; выявлена прямая взаимосвязь лептина с инсулином и индексом НОМА.

### **Изучение уровня повреждения ДНК лимфоцитов крови в зависимости от ИМТ**

Проведено изучение взаимосвязей ожирения с двухцепочечными разрывами ДНК лимфоцитов. На данном этапе исследования общее количество исследуемых составило 236 участников. Для изучения уровня повреждения ДНК лимфоцитов крови в зависимости от показателя индекса массы тела проанализированы следующие показатели: «Клетки с очагами разрывов», «Фокусы в целом», «Диаметр разрывов клеток», «Среднее

количество очагов на одну клетку», «Интенсивность свечения», «Процент поврежденных клеток».

Повреждения ДНК в зависимости от ИМТ по каналу разрывов показало, что 5 из 6 показателей статистически значимо различаются между пятью сравниваемыми группами.

Повреждения ДНК в зависимости от ИМТ по каналу репарации 1 из 6 показателей статистически значимо различается между пятью сравниваемыми группами.

Для представления изменений среднего значения показателей разрывов ДНК у исследуемых были отстроены графики с учетом процентных соотношений по показателям канала разрывов и канала репарации. Согласно динамике в изученных группах отмечается увеличение показателя «Клетки с очагами разрывов» и только в 5 группе отмечается достоверно значимое повышение количества клеток с разрывами ДНК в 2,9 раза по сравнению с контрольной группой, при этом уровень репарации изменяется незначительно и не покрывает число разрывов ДНК.

По показателю «Среднее количество очагов на одну клетку» в группах отмечается увеличение показателя и только у лиц с 3 степенью ожирения отмечается достоверно значимое повышение количества клеток с разрывами ДНК в 4,6 раза по сравнению с контрольной группой, при этом уровень репарации изменяется незначительно и не восстанавливает репарацию ДНК.

### **Влияние возраста и пола на повреждения ДНК**

Проведен анализ взаимосвязей повреждений ДНК и возраста. Медиана диаметров разрывов (Ме [LQ; UQ]) в возрасте до 29,9 лет составила 0,49 [0,382;0,612]  $\mu\text{m}$ ; 30-39,9 лет- 0,481 [0,429;0,542]  $\mu\text{m}$ ; 40-49,9 лет – 0,452 [0,377;0,565]  $\mu\text{m}$ ; более 50 лет – 0,489 [0,448;0,563]  $\mu\text{m}$ . Значимых различий между возрастными категориями не выявлено (Kruskal-Wallis test:  $H = 2,61$ ;  $p = ,4557$ ).

Среднее количество разрывов на клетку в возрасте до 29,9 лет составила 0,020 [0,009;0,902]; 30-39,9 лет - 0,014 [0,016;0,800]; 40-49,9 лет – 0,042 [0,007;0,546]; более 50 лет – 0,049 [0,009;1,016]. При проведении медианного теста выявлена значимая разница между разными возрастными группами (Chi-Square = 10,39;  $p = ,0155$ ).

Далее представлены сравнения с учетом пола по всем шести показателям: клетки с очагами разрывов, фокусы в целом, диаметр разрывов клеток по каналу разрывов (Mann-WhitneyTest). Выявлены наиболее значимые различия по полу, у женщин преобладают показатели «Клетки с очагами разрывов» в среднем в 1,3 раза ( $P = 0,0252$ ); показатель «Среднее количество разрывов на одну клетку» на 30% ( $P = 0,0251$ ); показатель «процент поврежденные клетки» на 26% ( $P = 0,0203$ ) по сравнению с мужчинами.

## **Формирование рискованных классов развития показателя «Клетки с очагами разрывов»**

Одной из задач исследования является возможность быстро проводить экспресс диагностику новых пациентов. Для этой цели, всех пациентов разделяют на несколько рискованных классов целевого события с помощью комбинации влияющих факторов и, далее, ранжируют классы по уровню риска. Для решения данной задачи хорошо зарекомендовал себя метод «деревьев классификации».

Для оценки прогнозного качества построенного дерева-решений используются такие показатели, как AuROC, чувствительность и специфичность. Если значение AuROC меньше 0,75, то прогнозные качества дерева на низком уровне, при значениях больше 0,75 – прогнозные качества на среднем уровне и значения выше 0,85 говорят о высоком прогножном качестве модели.

Отношение шансов (95% ДИ) статистически значимых факторов, влияющих на целевой показатель «Клетки с очагами разрывов». По результатам проведенного однофакторного анализа рисков целевого показателя «Клетки с очагами разрывов» можно сделать вывод, что тремя ключевыми статистически значимыми факторами развития риска являются «ИМТ, кг/м<sup>2</sup>  $\geq$  39,4», «Группы ИМТ (От 40,0 и более)» и «Индекс талия/рост  $\geq$  0,6» с уровнями абсолютного риска более 42,1%. Наличие одного из трех ключевых факторов повышает уровень риска данного показателя более чем в 2,4 раза.

Для целевого показателя «Среднее количество очагов на одну клетку» тремя ключевыми статистически значимыми факторами развития риска являются Для целевого показателя «Среднее количество очагов на одну клетку» тремя ключевыми статистически значимыми факторами развития риска являются «ИМТ, кг/м<sup>2</sup>  $\geq$  39,4» и «HbA1C-Гликированный гемоглобин, %  $\geq$  5,6» с уровнями абсолютного риска до 80%.

## **Анализ разрывов ДНК лимфоцитов крови при применении метформина у лиц с ожирением**

На данном этапе исследования проведено пилотное исследование по влиянию метформина на уровень разрывов ДНК лимфоцитов до и после применения у лиц с ожирением. Анализ проводился с использованием критерия Вилкоксона, поскольку в исследовании выделяется 2 временных периода. Основная задача метода определить были или нет статистически значимые изменения показателя между измерениями в сторону увеличения или уменьшения.

В исследовании приняло участие 27 пациентов. С целью изучения динамики разрывов ДНК лимфоцитов крови пациентам назначался пероральный препарат Метформин в суточной дозе 850 мг/сутки в течение 3-х месяцев. При приеме препарата нежелательных проявлений не наблюдалось.

Проведен анализ двунитевых повреждений ДНК до и после применения метформина. Показатель среднего количества разрывов на одну клетку составил до приема метформина  $0,41 \pm 0,010$ , после назначения метформина снизился до  $0,30 \pm 0,086$  (на 26,82%) ( $p < 0.0001$ ).

Анализ динамики количественных показателей по каналу репарации до и после приема метформина. После приема метформина отмечается достоверно значимое повышение уровня репарации по показателю «Среднее количество репарации на одну клетку» на 47,5% по сравнению до начала приема препарата.

На основании полученных результатов в рассматриваемый период времени по каналу репарации все показатели статистически значимо не изменяются, кроме показателя среднее количество репараций на одну клетку. По-видимому, повышение репарации нитей ДНК при применении метформина связано с активацией внутриклеточных контрольных точек ответа на повреждение ДНК и подавления иммортализации клеток.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на основании полученных результатов проведенного нами исследования были сделаны следующие **выводы**:

1. Частота избыточного веса в Западном регионе Казахстана у взрослых составила 48%, из которых 25% составляет избыточная масса тела и 23% ожирение. У женщин чаще встречается ожирение (1,7 раз) и избыточная масса тела (2,4 раза).
2. Выявлена достоверная положительная связь концентрации лептина с ИМТ ( $\rho = 0,57$ ,  $p < 0,01$ ), с уровнем инсулина ( $\rho = 0,28$ ,  $p < 0,01$ ) и индексом НОМА ( $\rho = 0,21$ ,  $p < 0,05$ ).
3. Доказано увеличение повреждений ДНК при ожирении 3 степени в 2,9 раза по показателю «Клетки с очагами разрывов» и в 4,6 раза по показателю «Среднее количество очагов на одну клетку» по сравнению с контрольной группой.
4. Анализ рисков повреждений ДНК дерево решений показал, что наличие одного из ключевых факторов «ИМТ  $\geq 39,4$ » и «Индекс талия/рост  $\geq 0,7$ » увеличивает уровень абсолютного риска до 84,6% по показателю «Клетки с очагами разрывов». Для целевого показателя «Среднее количество очагов на одну клетку» тремя ключевыми статистически значимыми факторами развития риска являются «ИМТ,  $\text{кг}/\text{м}^2 \geq 39,4$ » и «HbA1C-Гликированный гемоглобин, %  $\geq 5,6$ » с уровнями абсолютного риска до 80%.
5. Пероральное применение метформина в дозе 850 мг/сутки в течение 3-х месяцев у пациентов с ожирением (ИМТ более 30  $\text{кг}/\text{м}^2$ ) приводит к уменьшению среднего количества разрывов ДНК на одну клетку на 26,8% и повышение уровня репарации на 47,5%.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Врачам общей практики, терапевтам, эндокринологам помимо основных диагностических критериев при комплексном обследовании пациентов с ожирением рекомендуется определять уровень лептина, инсулина, индекс инсулинорезистентности (индекс НОМА), так как сочетание с «ИМТ  $\geq 39,4$ » и «Индекс талия/рост  $\geq 0,7$ » приводит к увеличению риска повреждений ДНК. При выявлении данных показателей у пациентов рекомендуется с целью профилактики развития предраковых состояний включить их в группу риска с дальнейшим наблюдением в динамике.