

# РАЗРЫВЫ И РЕПАРАЦИЯ ДНК В ЛИМФОЦИТАХ КАК ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ МАРКЕР У ПАЦИЕНТОВ С РАКОМ ЖЕЛУДКА

А.Б. ТУЛЯЕВА<sup>1</sup>, Е.М. ИЗТЛЕУОВ<sup>1</sup>, А.К. КОЙШЫБАЕВ<sup>1</sup>, П.А. АЙТМАГАМБЕТ<sup>1</sup>,  
Н.М. ИМАНБАЕВ<sup>1</sup>, Г.А. ЖУРАБЕКОВА<sup>1</sup>, Г.А. БАТЫРОВА<sup>1</sup>, Д.А. ЖОЛМУХАМЕДОВА<sup>1</sup>,  
Н.М. КЕРЕЕВА<sup>1</sup>, М.А. АЙТМАГАМБЕТОВА<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НАО «Западно-Казахстанский медицинский университет имени Марата Оспанова», Актобе, Республика Казахстан

## АННОТАЦИЯ

**Актуальность:** Своевременное обнаружение очагов двухнитевых разрывов ДНК с последующим запуском механизма репарации занимает важную роль в совокупной реакции при повреждении ДНК. Несвоевременное устранение разрывов двухнитевых ДНК и нарушение пути репарации является основным механизмом не только развития рака, но и прогрессирования онкологического процесса. Для достижения улучшенного результата целенаправленного лечения необходим поиск биомаркеров для выявления очагов двухнитевых разрывов ДНК.

**Цель исследования** – выявить сравнительные различия в показателях двухнитевых разрывов и репарационную активность ДНК в параметрах  $\gamma$ -H2AX, 53BP1 у условно здоровых лиц и пациентов с раком желудка.

**Методы:** Проведен анализ параметров повреждения очагов  $\gamma$ -H2AX, 53BP1 в лимфоцитах на автоматизированной системе AKLIDES® у пациентов с раком желудка ( $n=30$ ) и условно здоровых лиц ( $n=30$ ).

**Результаты:** Выявлены статистически значимые различия между условно здоровыми лицами и пациентами с раком желудка в параметрах  $\gamma$ -H2AX: «общее количество разрывов» ( $p=0,001$ ), «количество ядер с очагами разрывов» ( $p=0,015$ ), «среднее количество разрывов на клетку» ( $p=0,016$ ), «среднее значение всех очагов разрывов в клетке» ( $p=0,001$ ), а также в параметрах 53BP1: «количество ядер с очагами репарации» ( $p=0,001$ ), «среднее значение интенсивности свечения репарации в у.е.» ( $p=0,001$ ), «среднее количество репараций на клетку» ( $p=0,001$ ), «поврежденные клетки с низкой интенсивностью свечения» ( $p=0,019$ ).

**Заключение:** Биомаркеры двухнитевых разрывов ДНК с репарационной активностью ( $\gamma$ -H2AX, 53BP1) имеют клиническую значимость и потенциал применения в качестве диагностического маркера при персонализированной медицине.

**Ключевые слова:** двухнитевые разрывы ДНК,  $\gamma$ -H2AX, 53BP1, рак желудка.

**Введение:** Рак желудка (РЖ) занимает 5 место среди самых распространенных злокачественных заболеваний во всем мире и третье по значимости в причинах смертности от рака. Заболеваемость раком желудка в 2020 году в Республике Казахстан составила 9,5% на 100 тыс. населения. В Казахстане эта патология занимает третье место в заболеваемости (после рака молочной железы и рака легкого) и второе место по смертности. У мужчин заболеваемость составляет 12,7% на 100 тыс. населения, то есть второе место после рака легкого и второе место по смертности. У женщин заболеваемость раком желудка занимает четвертое место (6,6% на 100 тыс. населения) и третье место по смертности. К сожалению, в нашей стране 5-летняя выживаемость у больных с раком желудка составляет 28,2% [1, 2].

Более чем у половины пациентов РЖ диагностируется на поздних стадиях, а показатели 5-летней выживаемости колеблются в пределах 20-30%. Несмотря на последние достижения в терапии РЖ, прогноз, по-прежнему, остается неблагоприятным. Основным прогностическим инструментом для категоризации пациентов и выбора лечения является классификация TNM, но ее ограничения признаются все чаще. Ранние рецидивы могут возникать на ранней стадии заболевания, и у пациентов на одной и той же стадии наблюдаются неоднородные исходы [3]. Таким образом, существует потребность в изучении прогностических факторов для дальнейшего определения терапевтической мишени.

Канцерогенез имеет сложный механизм с вовлечением множества эндогенных и экзогенных повреждений двухнитевых разрывов ДНК. Двухнитевые разрывы ДНК – одно из главных опасных событий, которое может привести, в свою очередь, к геномной нестабильности с последующим развитием ракового процесса. Однако при повреждении ДНК происходит активизация сложного клеточного ответа, включающего: обнаружение поврежденного участка, усиление сигнала через каскад протеинкиназ и активацию ряда эффекторов, которые способствуют остановке клеточного цикла, репарации ДНК и активации апоптоза. Совокупность сложных механизмов – это реакция на повреждение ДНК (DNA Damage Response) [4]. Во время онкогенеза предраковые клетки часто приобретают изменения, приводящие к потере функции в генах DDR, отвечающих за репарационную активность, что ускоряет мутагенез и приводит к канцерогенезу [5].

Если здоровые клетки справляются с незначительными повреждениями и используют все возможности репарации ДНК, то злокачественные клетки часто обладают сниженной функциональностью репарации ДНК, чтобы справиться с повышенным стрессом репликации и повышенным уровнем повреждения эндогенной ДНК [6].

Состояние концевых структур двухнитевых разрывов ДНК и фаза клеточного цикла определяют путь репарации.

При повреждениях двухнитевых ДНК множественные механизмы координируют и сообщают о состоя-

нии клеточного цикла сайтам репарации, включающим большое количество генов. В ответ на двухнитевые разрывы ATM, ATR и DNA-ПКс фосфорилируют Ser139 гистона H2AX ( $\gamma$ -H2AX). В течение 30 минут после образования разрыва большое количество молекул  $\gamma$ H2AX образуются в хроматине вокруг места разрыва, образуя фокус, где накапливаются белки, участвующие в репарации ДНК и ремоделировании хроматина [7]. Последующее рекрутирование происходит на месте разрыва 53BP1-белка, который управляется сигнальным каскадом  $\gamma$ H2AX и играет роль в определении репарации ДНК [8]. Эта амплификация (усиление) позволяет обнаружить индивидуальные разрывы и репарационную активность с антителом к  $\gamma$ H2AX, 53BP1. Двухнитевые разрывы характеризуют геномную нестабильность и могут позволить оценить эффективность терапии злокачественного процесса. Мониторинг образования разрывов в клетке путем обнаружения образования фокуса  $\gamma$ H2AX и 53BP1 может представлять собой чувствительный метод для отслеживания прогрессирования рака и эффективности его лечения. [9].

**Цель исследования** – выявить сравнительные различия в показателях двухнитевых разрывов и репарационную активность ДНК в параметрах  $\gamma$ -H2AX, 53BP1 у условно здоровых лиц и пациентов с раком желудка.

**Материалы и методы:** В данном пилотном исследовании участвовали 30 условно здоровых людей и 30 пациентов с морфологически подтвержденным диагнозом «рак желудка». Исследование проводилось на базе Медицинского Центра и Научно-Практического Центра ЗКМУ имени Марата Оспанова (Актобе, Республика Казахстан). Протокол исследования был одобрен локальной комиссией по биоэтике (протокол №57, 17.01.2020 г).

Материал исследования – периферическая венозная кровь в объеме 10 мл (пробирка ЭДТА), содержащая мононуклеарные клетки. Забор периферической

крови в вакутейнер с ЭДТА2 проводили после получения информированного согласия участников.

Анализ очагов  $\gamma$ -H2AX, 53BP1 в лимфоцитах осуществляли с использованием набора для иммунофлуоресцентного окрашивания  $\gamma$ -H2AX, 53BP1, в соответствии с инструкциями производителя (AKLIDES Nuk Human Lymphocyte Complete, Medipan).

Статистическая обработка результатов проведена в Statistica.10 (Dell Technologies, Round Rock, Texas, США) с использованием программы SPSS.v.25. Для проверки двух несвязанных групп использовали критерий Манни-Уитни. Для оценки диагностической способности и качества метода диагностики использовали ROC-анализ (MedCalc Software Ltd., Ostend, Бельгия), который позволяет проанализировать чувствительность и специфичность, подобрать порог отсека и выбрать модель с наилучшей прогностической силой. В статистическую обработку входили следующие параметры: измерение площади под кривой (AUC), расчет диагностических характеристик теста: чувствительность – Sensitivity, специфичность – Specificity, положительная предиктивная величина – PPV, отрицательная предиктивная величина – NPV и точность теста – Accuracy. Результаты считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты:** Определены разрывы в ядрах лимфоцитов системой AKLIDES. Статистически значимые различия обнаружены у пациентов с РЖ в среднем диаметре разрывов двухнитевых разрывов ДНК ( $p=0,001$ ), причём следует отметить, что количество ядер с повышенной интенсивностью окрашивания существенно выше у условно здоровых пациентов ( $p=0,001$ ). Количество ядер с очагами разрывов также выявило статистические различия ( $p=0,015$ ).

Оценка различия разрывов и репарационной активности двухнитевых ДНК у пациентов с РЖ и условно здоровых лиц приведена в таблице 1.

**Таблица 1 – Сравнение контрольной группы и пациентов с РЖ в параметрах системы AKLIDES**

| Параметры двухнитевых разрывов ДНК по каналу FITS с использованием системы AKLIDES (гистон $\gamma$ H2AX) | Контроль | РЖ       | p*     |
|---|----------|----------|--------|
| Количество посчитанных ядер [n]   | 861,000  | 969,000  | 0,431  |
| Средний диаметр ядер [ $\mu$ m]   | 617,500  | 1212,500 | 0,001  |
| Ядра с повышенной интенсивностью свечения [AU]  | 1178,000 | 652,000  | 0,001  |
| Количество ядер с очагами разрывов [n]  | 1078,000 | 752,000  | 0,015  |
| Общее количество разрывов [n]   | 1122,500 | 707,500  | 0,001  |
| Диаметр разрывов [ $\mu$ m]   | 820,000  | 1010,000 | 0,163  |
| Среднее значение интенсивности свечения [AU]  | 1226,000 | 604,0000 | 0,001  |
| Среднее количество разрывов на клетку [n]   | 1134,500 | 695,5000 | 0,016  |
| Среднее значение всех очагов разрывов в клетке [n]  | 1134,500 | 695,5000 | 0,001  |
| Повреждённые клетки [%]   | 1123,500 | 706,5000 | 0,0017 |
| Среднее значение всех низких очагов в кластере [n]  | 1090,000 | 740,0000 | 0,009  |
| Среднее значение низкой интенсивности всех очагов [n]   | 1090,000 | 740,0000 | 0,009  |
| Повреждённые клетки с низкой интенсивностью свечения [%]  | 1082,500 | 747,500  | 0,012  |

Примечание: FITS – маркер двухнитевых разрывов ДНК (гистон  $\gamma$ H2AX).

p\* - U-критерий Манни-Уитни. Двусторонние отмеченные критерии значимы на уровне  $p < 0,05$

Обнаружены следующие статистически значимые различия: общее количество разрывов ( $p=0,002$ ), среднее значение интенсивности свечения разрывов в у.е. ( $p=0,001$ ), среднее количество разрывов на клетку ( $p=0,01$ ), среднее значение всех очагов разрывов в клетке ( $p=0,001$ ), поврежденные клетки ( $p=0,001$ ), среднее значение всех низких очагов в кластере ( $p=0,009$ ), среднее значение низкой интенсивности всех очагов в кластере ( $p=0,009$ ), повреждённые

клетки с низкой интенсивностью свечения ( $p=0,01$ ). В остальных клеточных параметрах статистически значимые различия не выявлены.

Определена репаративная активность (Таблица 2), согласно которой в обеих группах выявлены статистически значимые различия: количество ядер с очагами репарации ( $p=0,001$ ), среднее значение интенсивности свечения репарации в у.е. ( $p=0,001$ ), среднее количество репараций на клетку ( $p < 0,001$ ), среднее

значение всех низких очагов в кластере ( $p=0,001$ ), среднее значение низкой интенсивности всех очагов в кластере ( $p=0,031$ ), поврежденные клетки с низкой

интенсивностью свечения ( $p=0,019$ ). В остальных клеточных параметрах статистически значимые различия не выявлены.

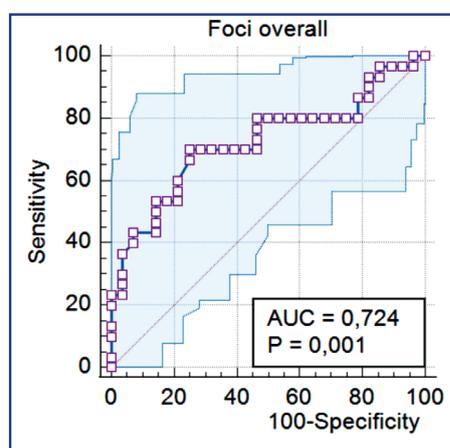
**Таблица 2 – Сравнение контрольной группы и пациентов с РЖ в параметрах системы AKLIDES**

| Параметры репарации двухнитевых разрывов ДНК по каналу репарации двухнитевых разрывов ДНК (53BP1) | Контроль | РЖ       | $p^*$ |
|---|----------|----------|-------|
| Количество ядер с очагами репарации [AU]  | 1211,000 | 619,000  | 0,001 |
| Общее количество репарации [n]  | 820,000  | 1010,000 | 0,163 |
| Диаметр репарации [ $\mu\text{m}$ ]   | 810,500  | 1019,500 | 0,122 |
| Среднее значение интенсивности свечения репарации [AU]  | 1225,000 | 605,000  | 0,001 |
| Среднее количество репараций на клетку [n]  | 777,000  | 1053,000 | 0,001 |
| Среднее значение всех очагов в клетке [n]   | 815,500  | 1014,500 | 0,142 |
| Поврежденные клетки [%]   | 846,500  | 983,500  | 0,313 |
| Среднее значение всех низких очагов в кластере  | 703,0000 | 1127,000 | 0,001 |
| Среднее значение низкой интенсивности всех очагов [n]   | 770,0000 | 1060,000 | 0,031 |
| Поврежденные клетки с низкой интенсивностью свечения [n]  | 757,0000 | 1073,000 | 0,019 |
| Среднее значение всех низких очагов в кластере [n]  | 1090,000 | 740,0000 | 0,009 |
| Среднее значение низкой интенсивности всех очагов [n]   | 1090,000 | 740,0000 | 0,009 |
| Поврежденные клетки с низкой интенсивностью свечения [%]  | 1082,500 | 747,500  | 0,012 |

Примечание:  $p^*$  - U-критерий Манна-Уитни. Двусторонние отмеченные критерии считались значимыми на уровне  $p < 0,05$ .

Новый метод диагностики требует оценки эффективности теста с определением его специфичности и чувствительности (ROC-кривая). Для этого был проведен ROC-анализ на главных параметрах двухнитевых разрывов и репараций ДНК системы AKLIDES по каналу FITS среди главных параметров двухнитевых разрывов ДНК.

При пороговом значении  $\leq 90$ , ROC-анализ общего количества разрывов двухнитевых ДНК имел чувствительность 70%, специфичность – 75%, PPV – 25,7%, NPV – 95,3%, AUC – 0,72 [95% ДИ: 0,59-0,83],  $p=0,001$  (рисунок 1).



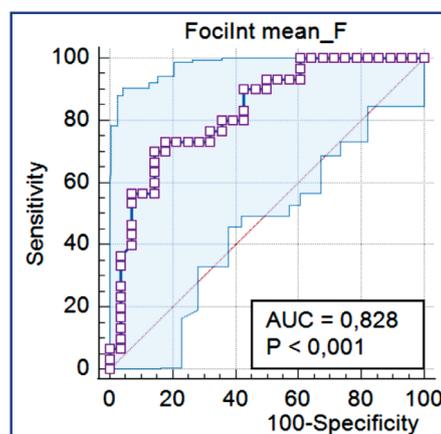
Легенда: Sensitivity – Чувствительность, Foci overall – Всего очагов, Specificity – Специфичность

Рисунок 1 – ROC-кривая для параметра «общее количество разрывов» ДНК при значении  $\leq 90$

Среднее количество разрывов двухнитевых ДНК, в условных единицах (у.е.): при значении  $\leq 72,95$  чувствительность составила 70%, специфичность – 85,71%, AUC – 0,82 [95% ДИ: 0,70-0,91],  $p < 0,001$  (рисунок 2).

Среднее количество очагов с низкой интенсивностью свечения в кластере двухнитевых разрывов ДНК: чувствительность составила 50%, специфичность – 85,71%, AUC – 0,648 [95% ДИ: 0,51-0,76] при значении  $\leq 1,344$ ,  $p=0,046$ . Среднее количество разрывов двухнитевых ДНК в кластере: чувствительность составила 66,67%, специфич-

ность – 78,6%, AUC – 0,71 [95% ДИ: 0,57-0,81] при значении  $\leq 0,804$ ,  $p < 0,0033$ . Поврежденные клетки: чувствительность составила 66,67%, специфичность – 78,57%, AUC – 0,73 [95% ДИ: 0,59-0,83] при значении  $\leq 52,34$ ,  $p=0,001$ . Среднее количество очагов с низкой интенсивностью свечения двухнитевых разрывов ДНК: чувствительность составила 50%, специфичность – 85,7%, AUC – 0,65 [95% ДИ: 0,51-0,76] при значении  $\leq 1,344$ ,  $p=0,05$ .



Легенда: Sensitivity – Чувствительность, Foci overall – Всего очагов, Specificity – Специфичность.

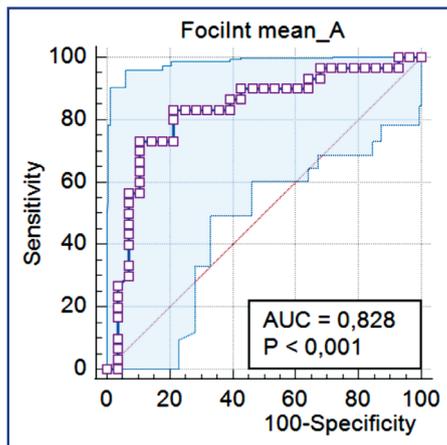
Рисунок 2 – ROC-кривая для параметра «среднее количество разрывов» при значении  $\leq 72,95$

По каналу APC (репарация) среди главных параметров репарации двухнитевых разрывов ДНК получены следующие результаты:

Среднее количество репарации двухнитевых разрывов ДНК в у.е.: чувствительность составила 73,33%, специфичность – 89,29%, AUC – 0,83 [95% ДИ: 0,70-0,91]  $p < 0,001$  (рисунок 3).

Среднее количество очагов с низкой интенсивностью свечения, репарации двухнитевых разрывов ДНК: чувствительность составила 33%, специфичность – 100%, AUC – 0,699 [95% ДИ: 0,56-0,81] при значении  $> 5,573$ ,  $p=0,0037$ .

В остальных параметрах двухнитевых разрывов и репараций ROC-кривой статистической значимости не выявлено.



Легенда: Sensitivity – Чувствительность, Foci overall – Всего очагов, Specificity – Специфичность

Рисунок 3 – ROC-кривая для параметра «среднее количество репараций» разрывов при значении  $\leq 330,5$

**Обсуждение:** Проведено недостаточно исследований для оценки  $\gamma$ H2AX у пациентов с РЖ. Согласно исследованию Chang и соавт. с участием 44 пациентов с язвенной болезнью желудка до и после эрадикации *H. pylori*, при проведении анализа на фрагментацию ДНК ( $\gamma$ H2AX и фосфо-53BP1) на гистологических тканях средний показатель экспрессии  $\gamma$ H2AX был значительно выше в эпителии желудка, инфицированном *H. pylori*, по сравнению с эпителием желудка, эрадицированным *H. pylori* ( $8,8 \pm 5,5$  против  $6,2 \pm 5,3$  соответственно;  $p=0,008$ ). Показатель экспрессии фосфо-53BP1 между до и после эрадикации *H. pylori* статистически не отличался, но имел тенденцию быть выше при инфекции *H. pylori*. Фрагментация ДНК была значительно сильнее развита в клеточных линиях после заражения *H. pylori* [10].

В корейском исследовании Kim и др. тканевые микрочипы из материалов 121 пациента, перенёсших операцию по поводу рака желудка, и 51 пациента после эндоскопической резекции аденомы желудка были подвергнуты иммуногистохимическому окрашиванию на маркеры 53BP1 и гамма-H2AX. Цель исследования состояла в том, чтобы определить различия в экспрессии 53BP1 и гамма-H2AX – маркеров двухнитевых разрывов ДНК – среди нормальных тканей, тканей аденомы желудка и аденокарциномы желудка. Нормальные ткани были собраны из тканей без гистологически подтвержденной клеточной атипии, полученных от пациентов с аденокарциномой желудка. Согласно результатам исследования, в клетках карциномы желудка экспрессия 53BP1 и гамма-H2AX была высокой по сравнению с нормальными эпителиальными клетками и клетками аденомы желудка ( $p < 0,01$ ). Не было выявлено различий в экспрессии 53BP1 и гамма-H2AX между нормаль-

ным эпителием и аденомой желудка. Экспрессия 53BP1 в аденоме с атипизмом II и III степени была более повышенной, чем при атипизме I степени. Экспрессия 53BP1 и гамма-H2AX достоверно не различалась по клинико-патологическим параметрам у пациентов с аденокарциномой желудка [11].

Xie и соавт. обнаружили корреляцию сверхэкспрессии  $\gamma$ H2AX при РЖ с локализацией и дифференцировкой опухоли, глубиной инвазии, стадией TNM и метастазированием в лимфатические узлы [12].

**Заключение:** Учитывая статистические различия между условно здоровыми лицами и пациентами РЖ в результатах двухнитевых разрывов и репарационной активности ДНК, можно предположить клиническую значимость исследования  $\gamma$ H2AX и 53BP1 в качестве диагностических биомаркеров у пациентов с РЖ.

**Список использованных источников:**

1. World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. Globocan 2020. Kazakhstan fact sheets. 02.11.23. <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/398-kazakhstan-fact-sheets.pdf>
2. World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. Estimated number of new cases from 2020 to 2040, Incidence, Both sexes, age [0-85+] Kazakhstan. 06.11.2023. [https://gco.iarc.fr/tomorrow/en/dataviz/tables?types=0&sexes=0&mode=cancer&group\\_populations=1&multiple\\_populations=0&multiple\\_cancers=1&cancers=7&populations=398&years=2030](https://gco.iarc.fr/tomorrow/en/dataviz/tables?types=0&sexes=0&mode=cancer&group_populations=1&multiple_populations=0&multiple_cancers=1&cancers=7&populations=398&years=2030)
3. Moehler M., Högner A., Wagner A. D., Obermannova R., Alsina M., Thuss-Patience P., van Laarhoven H., Smyth E. Recent progress and current challenges of immunotherapy in advanced/metastatic esophagogastric adenocarcinoma // Eur. J. Cancer. – 2022. – Vol. 176. – P. 13-29. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2022.08.023>
4. Ye Z., Shi Y., Lees-Miller S.P., Tainer J.A. Function and Molecular Mechanism of the DNA Damage Response in Immunity and Cancer Immunotherapy // Front. Immunol. – 2021. – Vol.12. – Art. no. 797880. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.797880>
5. Dietlein F., Thelen L., Reinhardt H.C. Cancer-specific defects in DNA repair pathways as targets for personalized therapeutic approaches // Trends Genet. – 2014. – Vol. 30. – P. 326-339. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2014.06.003>
6. O'Connor M.J. Targeting the DNA damage response in cancer // Mol. Cell. – 2015. – Vol. 60. – P. 547-560. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.10.040>
7. Stope M.B. Phosphorylation of histone H2A.X as a DNA-associated biomarker (Review) // World Acad. Sci. J. – 2021. – Vol. 3. – P. 31. <https://doi.org/10.3892/wasj.2021.102>
8. Sekiguchi M., Matsushita N. DNA Damage Response Regulation by Histone Ubiquitination // Int. J. Mol. Sci. – 2022. – Vol. 23 (15). – P. 8187. <https://doi.org/10.3390/ijms23158187>
9. Banjarnahor C.T.U., Hardiany N.S., Wahjoepramono E.J., Hariyanto A.D., Sadikin M. High concentration of  $\gamma$ -H2AX correlates with a marker of apoptotic suppression and PI3K/Akt pathway upregulation in glioblastoma multiforme // Oncol. Lett. – 2023. – Vol. 25 (4). – Art. no. 149. <https://doi.org/10.3892/ol.2023.13735>
10. Zamperone A., Cohen D., Stein M., Viard C., Müsch A. Inhibition of polarity-regulating kinase PAR1b contributes to Helicobacter pylori inflicted DNA Double Strand Breaks in gastric cells // Cell. Cycle. – 2019. – Vol. 3. – P. 299-311. <https://doi.org/10.1080/15384101.2018.1560121>
11. Kim J.H., Kim S.S., Byun S.W., Chang Y.J., Kim J.S., Kim J.K., Cho H.J., Lim K.W., Jung E.S. Double strand break of DNA in gastric adenoma and adenocarcinoma // Korean J. Gastroenterol. – 2010. – Vol. 55 (1). – P. 19-25. <https://doi.org/10.4166/kjg.2010.55.1.19>
12. Xie C., Xu L.Y., Yang Z., Cao X.-M., Li W., Lu N.-H. Expression of  $\gamma$ H2AX in various gastric pathologies and its association with Helicobacter pylori infection // Oncol. Lett. – 2014. – Vol. 7 (1). – P. 159-163. <https://doi.org/10.3892/ol.2013.1693>

АНДАТПА

**АСҚАЗАННЫҢ ҚАТЕРЛІ ІСІГІ БАР НАУҚАСТАРДА ДИАГНОСТИКАЛЫҚ МАРКЕР РЕТІНДЕ ЛИМФОЦИТТЕРДІҢ ДНҚ ҮДІРАУЫ ЖӘНЕ ҚАЛПЫНА КЕЛУІ**

А.Б. Туляева<sup>1</sup>, Е.М. Изтлеуов<sup>1</sup>, А.К. Койшыбаев<sup>1</sup>, П.А. Айтмағамбет<sup>1</sup>, Н.М. Иманбаев<sup>1</sup>, Г.А. Журабекова<sup>1</sup>, Г.А. Батырова<sup>1</sup>, Д.А. Жолмухамедова<sup>1</sup>, Н.М. Кереева<sup>1</sup>, М.А. Айтмағамбетова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>«Марат Оспанов атындағы Батыс Қазақстан медицина университеті» КЕАҚ, Ақтөбе, Қазақстан Республикасы

**Өзектілігі:** Қостізбекті ДНҚ үзілістері ошақтарының уақытылы анықталуы, содан кейінгі репарация механизмінің басталуы ДНҚ зақымдалуына жалпы жауап беруде маңызды рөл атқарады. Өйткені, қос тізбекті ДНҚ үзілістерін уақытылы жоймау және қалпына келтіру жолын бұзу, ісік дамуының ғана емес, сонымен қатар онкологиялық процестің дамуының негізгі механизмі болып

табылады. Мақсатты емдеудің жақсартылған нәтижесіне жету үшін, қостізбекті ДНҚ үзілістерінің ошақтарын анықтауда биомаркерлерді іздеу қажет.

**Зерттеу мақсаты:** Шартты дені сау адамдар мен асқазан обыры бар емделушілер арасындағы  $\gamma$ -H2AX, 53BP1 параметрлеріндегі қос тізбекті үзілістер мен ДНҚ репарация белсенділігінің салыстырмалы айырмашылығын бағалау.

**Әдістері:** Асқазан обыры бар науқастарда ( $n=30$ ) және шартты сау адамдарда ( $n=30$ ) автоматтандырылған AKLIDES® жүйесін пайдалана отырып, лимфоциттерде  $\gamma$ -H2AX, 53BP1 параметрлері бар ошақтарды талдау.

**Нәтижелері:** Дені сау адамдар мен асқазан обыры бар науқастар арасында  $\gamma$ -H2AX параметрлерінде статистикалық маңызды айырмашылықтар анықталды: «Үзілістердің жалпы саны» ( $p=0,001$ ), «Үзіліс ошақтары бар ядролар саны» ( $p=0,015$ ), «Бір жасушадағы үзілістердің орташа саны» ( $p=0,016$ ), «Жасушадағы барлық үзілістердің орташа мәні» ( $p=0,001$ ), сондай-ақ 53BP1 параметрлерінде: «Репарация ошақтары бар ядролар саны» ( $p=0,001$ ), «Шартты бірліктерде репарацияның ағару қарқындылығының орташа мәні» ( $p=0,001$ ), «Бір жасушадағы репарацияның орташа саны» ( $p=0,001$ ), «Ағару қарқындылығы төмен зақымдалған ұяшықтар» ( $p=0,019$ ).

**Қорытынды:** Қос тізбекті ДНҚ жіпшелерінің үзіліс пен репарация активтілігін көрсететін биомаркерлер ( $\gamma$ -H2AX, 53BP1) клиникалық тұрғыдан дербестенген диагностикалық әлеуеті анықталды.

**Түйінді сөздер:** ДНҚ қос тізбекті үзілуі,  $\gamma$ -H2AX, 53BP1, асқазан обыры.

## ABSTRACT

### DNA BREAKS AND REPAIR IN LYMPHOCYTES AS A DIAGNOSTIC MARKER IN PATIENTS WITH GASTRIC CANCER

A.B. Tulyayeva<sup>1</sup>, E.M. Iztleuov<sup>1</sup>, A.K. Koishybaev<sup>1</sup>, P.A. Aitmagambet<sup>1</sup>, N.M. Imanbayev<sup>1</sup>, G.A. Zhurabekova<sup>1</sup>, G.A. Batyrova<sup>1</sup>, D.A. Zholmukhamedova<sup>1</sup>, N.M. Kereeva<sup>1</sup>, M.A. Aitmagambetova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>«Marat Ospanov West Kazakhstan Medical University» NCJSC, Aktobe, the Republic of Kazakhstan

**Relevance:** Timely detection of foci of double-strand DNA breaks with subsequent initiation of the repair mechanism plays a crucial role in the overall response to DNA damage. Untimely resolution of double-strand DNA breaks and disruptions in the repair pathway constitute a fundamental mechanism in cancer development and progression. A search for biomarkers is needed to identify foci of double-strand DNA breaks and achieve a better outcome of targeted therapy.

**The study aimed to** identify comparative differences in double-strand breaks and DNA repair activity in  $\gamma$ -H2AX and 53BP1 parameters in conditionally healthy individuals and patients with gastric cancer.

**Methods:** Analysis of focal points of  $\gamma$ -H2AX, 53BP1 with lymphocyte parameters using the automated AKLIDES® system in gastric cancer patients ( $n=30$ ) and conditionally healthy individuals ( $n=30$ ).

**Results:** Statistically significant differences were found between conditionally healthy individuals and patients with gastric cancer in  $\gamma$ -H2AX parameters: 'Total number of breaks' ( $p=0.001$ ), 'Number of nuclei with break foci' ( $p=0.015$ ), 'Average number of breaks per cell' ( $p=0.016$ ), 'Mean value of all break foci per cell' ( $p=0.001$ ), and in 53BP1 parameters: 'Number of nuclei with repair foci' ( $p=0.001$ ), 'Mean intensity of repair fluorescence in arbitrary units' ( $p=0.001$ ), 'Mean number of repairs per cell' ( $p=0.001$ ), and 'Damaged cells with low fluorescence intensity' ( $p=0.019$ ).

**Conclusion:** Biomarkers of double-strand DNA breaks with repair activity ( $\gamma$ -H2AX, 53BP1) have clinical significance, contributing to the development of targeted medicine in oncology.

**Keywords:** Double-strand DNA breaks,  $\gamma$ -H2AX, 53BP1, gastric cancer.

**Прозрачность исследования:** Авторы несут полную ответственность за содержание данной статьи.

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование:** Исследование выполнено в рамках внутривузловского НТП НАО ЗКМУ имени Марата Оспанова «Роль микроэлементного статуса, поврежденный ДНК в развитии онкопатологии (на примере Актыубинской области)», руководитель Батырова Г.А. (2020 г).

Спонсор не имел никакой роли в дизайне и исполнении исследования, сборе данных, управлении, анализе и интерпретации, создании научной статьи, рецензии и одобрении, решении подачи статьи на публикацию.

**Вклад авторов:** вклад в концепцию – Журабекова Г.А.; научный дизайн – Туляева А.Б., Кереева Н.М., Айтмагамбет П.Ж.; исполнение заявленного научного исследования – Туляева А.Б., Батырова Г.А., Айтмагамбетова М.А., Жолмухамедова Д.А.; интерпретация заявленного научного исследования – Койшыбаев А.К., Изтлеуов Е.М.; создание научной статьи – Иманбаев Н.М.

**Сведения об авторах:**

**Туляева Анар Балкашевна (корреспондирующий автор)** – PhD, асс. каф. онкологии НАО ЗКМУ им. Марата Оспанова, Актобе, Республика Казахстан, тел.: +77016599861, e-mail: dekart\_85@mail.ru, ORCID ID: 0000-0001-7149-0121;

**Изтлеуов Ерболат Маратович** – к.м.н., руководитель кафедры «Радиология» НАО ЗКМУ им. Марата Оспанова, Актобе, Республика Казахстан, тел.: +77756988866, e-mail: ermar80@mail.ru, ORCID ID: 0000-0002-5303-8593;

**Койшыбаев Арип Кубекович** – к.м.н., ассоциированный профессор, руководитель кафедры «Онкология» НАО ЗКМУ им. Марата Оспанова, Актобе, Республика Казахстан, тел.: +77053800481, e-mail: arip\_koish@mail.ru, ORCID ID: 0000-0002-6164-8009;

**Иманбаев Наурызбай Максотович** – PhD докторант по специальности «Медицина», НАО ЗКМУ им. Марата Оспанова, Актобе, Республика Казахстан, тел.: +77019450703, e-mail: nauрызбай92@mail.ru, ORCID ID: 0000-0002-8339-9373;

**Жолмухамедова Динара Алматовна** – асс. каф. онкологии НАО ЗКМУ им. Марата Оспанова, Актобе, Республика Казахстан, тел.: +77010322208, e-mail: dinok\_245@mail.ru, ORCID ID: 0000-0002-5303-8593;

**Кереева Нургул Мейримова** – к.м.н., доцент каф. онкологии НАО ЗКМУ им. Марата Оспанова, Актобе, Республика Казахстан, тел.: +77014536721, e-mail: nrg177@mail.ru, ORCID ID: 0000-0001-6205-4029;

**Журабекова Гульмира Атагулловна** – к.м.н., ассоциированный профессор, проректор по стратегическому развитию, науке и международному сотрудничеству НАО ЗКМУ им. Марата Оспанова, Актобе, Республика Казахстан, тел.: +77021578313, e-mail: gzhurabekova@gmail.com, ORCID ID: 0000-0002-2166-3095;

**Батырова Гульнара Арыстангалиевна** – PhD, руководитель кафедры «Клинической лабораторной диагностики» НАО ЗКМУ им. Марата Оспанова, Актобе, Республика Казахстан, тел.: +77016497460, e-mail: batyrovagulnara77@gmail.com, ORCID ID: 0000-0001-7970-4059;

**Айтмаганбет Перизат Ж.** – PhD, и.о. доцента кафедры «Общественного здоровья и здравоохранения» НАО ЗКМУ им. Марата Оспанова, Актобе, Республика Казахстан, тел.: +77023398577, e-mail: pki.kz@mail.ru, ORCID ID: 0000-0002-1958-0493;

**Айтмагамбетова Маржан Алтынбековна** – асс. каф. онкологии ЗКМУ им. Марата Оспанова, Актобе, Республика Казахстан, тел.: +77026780057, e-mail: inzhumarzhan90@mail.ru, ORCID ID: 0000-0002-0346-5829.

**Адрес для корреспонденции:** Туляева А.Б., НАО Западно-Казахстанский медицинский университет имени Марата Оспанова, ул. Маресьева 68, г. Актобе, 030019, Республика Казахстан.