

<https://doi.org/10.29296/25877305-2019-10-18>

Длина теломер как маркер продолжительности жизни после резекционного вмешательства

Г. Елеуов^{1,2}, кандидат медицинских наук,

А. Акильжанова²,

О. Оспанов^{1,2}, доктор медицинских наук, профессор,

Д. Вычужанин³, кандидат медицинских наук,

Т. Мукантаев¹, доктор медицинских наук, профессор

Э. Гельмутдинова³

¹Медицинский университет «Астана», Нур-Султан, Казахстан

²Корпоративный фонд «University Medical Center»,

Нур-Султан, Казахстан

³Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет)

E-mail: vichy@list.ru

Представлены результаты оценки длины теломер как маркера биологического старения после желудочного шунтирования у пациентов с метаболическим синдромом. Отмечено, что после снижения массы тела длина теломер увеличилась во всех сравниваемых хирургических группах без статистически значимых различий.

Ключевые слова: хирургия, эндокринология, ожирение, метаболический синдром, желудочное шунтирование, теломеры, банд-разделенное гастрощунтирование.

Для цитирования: Елеуов Г., Акильжанова А., Оспанов О. и др. Длина теломер как маркер продолжительности жизни после резекционного вмешательства // Врач. – 2019; 30 (10): 85–87. <https://doi.org/10.29296/25877305-2019-10-18>

Распространенность ожирения среди населения Казахстана в 2017 г. превысила 20%; рост этого показателя за последние 5 лет составил 3,9% [1, 2]. Метаболический синдром (МС), включающий абдоминальное ожирение и комбинацию симптомов с нарушением углеводного обмена, артериальной гипертензией и дислипидемией, ожирение с МС снижают продолжительность жизни и повышают смертность среди населения Казахстана [3]. Предполагается, что снижение избыточной массы тела хирургическим путем положительно влияет на клиническое течение и продолжительность жизни пациентов с МС.

К сожалению, использование эндоскопических степлеров для хирургического похудения не исключает возникновения серьезных хирургических осложнений, таких как кровотечение и несостоятельность степлерного шва. Поэтому нами были разработаны бесстеплерные методы желудочного шунтирования [4].

В последнее десятилетие практическое применение получило использование генетического исследова-

ния теломер для изучения продолжительности жизни пациентов [5]. Теломеры являются повторяющимися нуклеотидными элементами на концах хромосом, которые защищают хромосомы от деградации и потери генетической информации. Сокращение теломер негативно влияет на состояние здоровья и связано со многими проблемами, включая старение и развитие рака. Точная и последовательная количественная оценка длины теломер важна во многих аспектах клеточной биологии таких как хромосомная нестабильность, репарация ДНК, старение, апоптоз и дисфункция клеток [6].

Кроме того, известно, что усиление системного воспаления и окислительного стресса, связанного с ожирением, может ускорить старение, а длина теломер может служить индикатором старения на клеточном уровне [7]. Ожирение имеет известную связь с более коротким теломером [8]. Однако связь снижения массы тела с изменением ожидаемой продолжительности жизни продолжает обсуждаться. Поэтому с учетом появления новых методов хирургического лечения и новых маркеров для изучения продолжительности жизни на генетическом уровне требуются новые исследования, учитывающие данные реалии.

Цель исследования: сравнить изменение длины теломер до и через 6 мес после снижения массы тела у пациентов после одноанастомозного гастрощунтирования в авторском и стандартном вариантах исполнения.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования: интервенционное перспективное контролируемое простое ослепленное рандомизированное исследование.

Критериями включения в исследование были:

- возраст от 18 до 60 лет;
- индекс массы тела (ИМТ) от 35 до 60 кг/м²;
- наличие МС:
- абдоминальное (висцеральное) ожирение с увеличением окружности талии >94 см у мужчин и >80 см – у женщин;
- наличие по меньшей мере 2 из 4 следующих компонентов:
 - 1) предиабет ($HbA_{1c} = 5,7–6,4$ ммоль/л или 3-кратное увеличение уровня глюкозы в плазме натощак >5,6 ммоль/л); ранее диагностированный сахарный диабет типа 2 ($HbA_{1c} > 6,5$ или глюкоза >6,1);
 - 2) артериальная гипертензия (АД – 130/85 мм рт. ст. или прием антигипертензивных препаратов);
 - 3) повышение уровня триглицеридов (>1,7 ммоль/л) или получение специфического лечения этого нарушения;
 - 4) снижение уровня холестерина липопротеидов высокой плотности <1,03 ммоль/л у мужчин и <1,29 ммоль/л – у женщин или получающих лечение от этого нарушения;

- физическое состояние 1–2 балла по градации Американского общества анестезиологов (ASA);
- наличие письменного согласия на проведение исследования и на изучаемый тип операции.

Критерии исключения:

1. Наличие алкоголизма, наркозависимости или психического заболевания.
2. Несоблюдение врачебных рекомендаций или несогласие продолжать исследование (n=2).
3. Физическое состояние 3–4 балла по градации ASA.

Исследование проведено в хирургическом отделении АО «Национальный научный центр онкологии и трансплантологии», относящийся к корпоративному фонду «University Medical Center» (Нур-Султан, Казахстан).

Исследование одобрено Этическим комитетом «University Medical Center» в мае 2018 г., протокол исследования опубликован в журнале «Trial» [3].

Пациенты с морбидным ожирением и МС были рандомизированы методом запечатанных непрозрачных конвертов на 2 группы.

В 1-й группе пациентам (n=20) было проведено лапароскопическое одноанастомозное гастропунктирование (ЛОАГШ) с банд-разделенным паучем (малым желудком) – «бесстеплерный метод». Во 2-й группе пациентам (n=20) применяли стандартный метод ЛОАГШ со степлер-разделенным паучем (СРП) (малым желудком) – «степлерный».

Длину теломер измеряли в соотношении T/S с адаптацией методов количественной полимеразной цепной реакции (q-PCR), описанных R. Cawthon [9].

Образцы крови для определения длины теломера собирали в стерильные вакутайнеры. ДНК очищали с использованием системы Promega Wisard DNA и хранили при температуре -20°C. Для измерения теломер добавляли праймеры Telg-5'-ACACTAAGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGT TAGTGT-3' и Telc-5'-TGTTAGGTATCCSTATCCSTATCCSTATCCSTATCCСТААСА-3'. Каждый образец усиливался для теломерической ДНК единичной копией контрольного гена, который обеспечивал внутренний контроль для нормализации исходного количества ДНК. Для преобразования порога цикла в наногаммы ДНК использовали 4-точечную стандартную кривую (2-кратные серийные разведения от 10 до 1,25 нг ДНК). Исходное фоновое вычитание выполняли путем выравнивания графиков усиления до базовой высоты 2% в первые 5 циклов, где порог цикла установлен на уровне 20% от максимального продукта. Очистку геномной ДНК (gDNA) из цельной крови проводили и хранили при -80°C. QPCR выполняли на 7900HT FastReal-Time PCR System в 384-пластинах. Анализы выполняли с использованием 7900HT Sequence Detection System (SDS) версии 2.3 (Applied Biosystems Inc., США). Условия циклирования для прогона теломеры: 50°C – в течение 2 мин, 95°C – в течение 2 мин, затем 2 цикла 95°C в течение 15 с, 52°C – в течение 15 с и 36 циклов 95°C в течение 15 с, 62°C – в течение 15 с и 71°C – в течение 15 с. Все образцы выполняли в 3 экземплярах; медиану использовали для расчетов. Количество теломерной ДНК (Т) делили на количество ДНК (S) с контролем одного экземпляра, производя относительное измерение длины теломер (отношение T/S). В каждом эксперименте выполняли 2 контрольных образца, чтобы обеспечить нормализацию между экспериментами; эксперименты по периодической воспроизводимости выполняли для обеспечения правильных измерений. Вычисленное соотношение пропорционально средней длине теломер на клетку.

Статистический анализ был выполнен с использованием Microsoft Excel для Mac (Microsoft Corp.) и StatPlus: MacPro (Analyst Soft Inc.).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В обеих группах не было существенных различий по полу и возрасту обследованных (табл. 1).

Показатели снижения массы тела в группах представлены в табл. 2.

Разница в бариатрической эффективности в снижении массы тела в сравниваемых группах была незначительной. Изменение ИМТ (ΔВМІ) в 1-й группе составило 11,2±3,0 кг/м², во 2-й группе – 9,8±2,4 кг/м² (p>0,05).

TWL в 1-й группе составила 27,6±5,3%, во 2-й – 23,7±4,4% (p>0,05).

Таблица 1
Пол и возраст в сравниваемых группах (M±σ)

Показатель	«Бесстеплерная» (1-я) (n=20)	«Степлерная» (2-я) (n=20)	p
Пол (ж/м)	15/5	11/9	>0,05*
Возраст, годы	43,5±9,2	42,7±8,0	>0,05

Примечание. * – Для сравнения качественных показателей использовали таблицу сопряженности 2×2.

Таблица 2
Послеоперационное изменение основных бариатрических показателей через 6 мес (M±σ)

Показатель	1-я группа		2-я группа	
	до операции	после операции	до операции	после операции
ИМТ, кг/м ²	41,3±4,2	30,1±4,0*	41,9±4,4	32,1±3,0*
ИМТ ΔВМІ, кг/м ²		11,2±3,0		9,8±2,4**
TWL, %		27,6±5,3		23,7±4,4**

Примечание. ИМТ – индекс массы тела; ΔВМІ – изменение ИМТ; TWL – общая потеря массы тела; различия: * – p<0,05 – между показателями до и после операции в группе; ** – p>0,05 – между группами.

Длина теломер показана в табл. 3.

Как видно из табл. 3, длина теломер значительно увеличилась после потери массы тела: в 1-й группе – с дооперационного индекса $3,70 \pm 0,62$ до $5,62 \pm 2,08$ ($p < 0,001$), во 2-й – с $3,56 \pm 0,50$ до $5,38 \pm 1,90$ ($p < 0,001$), но послеоперационная разница в длине теломер в сравниваемых группах не была статистически значимой ($p > 0,05$).

Полученный нами результат по снижению массы тела четко коррелировал с удлинением теломер. При этом важно заметить, что послеоперационный стресс не повлиял отрицательно и не вызвал укорочение длины теломер. Наши результаты совпадают с таковыми, полученными ранее другими авторами [10].

Таким образом, проведенное исследование подтверждает ряд других работ, которые указывают на то, что снижение ИМТ до нормальных величин удлиняет теломеры на концах хромосом, позволяя увеличить жизнь клетки, а значит, и всего организма [11].

Наше исследование показывает, что длина теломер после снижения массы тела у пациентов с морбидным ожирением и МС увеличивается независимо от использованной техники гастрощунтирования, но разница увеличения длины теломер между сравниваемыми группами статистически незначима.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература/Reference

1. Fursov R., Ospanov O., Fursov A. Prevalence of obesity in Kazakhstan // AMJ. – 2017; 10 (11): 916–20. DOI: 10.21767/AMJ.2017.3169.
2. Fursov R., Ospanov O., Fursov A. Obesity as an actual problem: spatial research in Kazakhstan (2011–2016) // Indian J. Public Health Res. Dev. – 2018; 9: 1–7. DOI: 10.5958/0976-5506.2018.00603.4.
3. Ospanov O., Eleuov G., Kadyrova I. et al. The life expectancy of patients with metabolic syndrome after weight loss: study protocol for a randomized clinical trial (LIFEXPE-RT) // Trials. – 2019; 20 (1): 202. DOI: 10.1186/s13063-019-3304-9.
4. Ospanov O. Laparoscopic band-separated one anastomosis gastric bypass // Obes. Surg. – 2016; 26: 2268–9. DOI: 10.1007/s11695-016-2281-2.
5. Laimer M., Melmer A., Lamina C. et al. Telomere length increase after weight loss induced by bariatric surgery: results from a 10 years prospective study // Int. J. Obes. (Lond) – 2015; 40: 773–8. <http://dx.doi.org/10.1038/ijo.2015.238>.
6. Njajou O., Cawthon R., Blackburn E. et al. Shorter telomeres are associated with obesity and weight gain in the elderly // Int. J. Obes. (Lond). – 2012; 36 (9): 1176–9. DOI: 10.1038/ijo.2011.196.

Таблица 3

Длина теломер (соотношение T/S) в 2 группах сравнения (M±σ)

Показатель	«Бесстеплерный метод» (1-я группа)	«Степлерный метод» (2-я группа)	p
Длина теломер (соотношение T/S):			
до операции	3,70±0,62	3,56±0,50	>0,05
после операции	5,62±2,08	5,38±1,90	>0,05
p (до и после)	<0,001	<0,001	

7. Shalev I., Entringer S., Wadhwa P. et al. Stress and telomere biology: a lifespan perspective // Psychoneuroendocrinology. – 2013; 38 (9): 1835–42. <http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2013.03.010>.

8. Lee M., Martin H., Firpo M. et al. Inverse association between adiposity and telomere length: the Fels longitudinal study // Am. J. Hum. Biol. – 2011; 23: 100–6. <http://dx.doi.org/10.1002/ajhb.21109>.

9. Cawthon R. et al. Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older // Lancet. – 2003; 361 (9355): 393–5.

10. Carulli L. et al. Telomere length elongation after weight loss intervention in obese adults // Mol. Genet. Metab. – 2016; 118 (2): 138–42. DOI: 10.1016/j.ymgme.2016.04.003.

11. Muezzinler A., Zaineddin A., Brenner H. Body mass index and leukocyte telomere length in adults: a systematic review and meta-analysis // Obes. Rev. – 2014; 15 (3): 192–201. <http://dx.doi.org/10.1111/obr.12126>.

TELOMERE LENGTH AS A MARKER OF LIFE EXPECTANCY AFTER RESECTION SURGERY

G. Eleuov^{1,2}, Candidate of Medical Sciences; **A. Akilzhanova**²; Professor **O. Ospanov**^{1,2}, MD; **D. Vychuzhanin**³, Candidate of Medical Sciences; Professor **T. Mukantaev**¹, MD; **E. Gelmutdinova**³

¹Astana Medical University, Nur-Sultan, Kazakhstan

²«University Medical Center» Corporate Fund, Nur-Sultan, Kazakhstan

³I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)

The paper presents the results of estimating the telomere length as a marker of biological aging after gastric bypass surgery in patients with metabolic syndrome. After weight loss, the telomere length is noted to have increased in all the compared surgical groups without statistically significant differences.

Key words: obesity, metabolic syndrome, gastric bypass surgery, telomere, band-divided gastric bypass surgery.

For citation: Eleuov G., Akilzhanova A., Ospanov O. et al. Telomere length as a marker of life expectancy after resection surgery // Vrach. – 2019; 30 (10): 85–87. <https://doi.org/10.29296/25877305-2019-10-18>