

**Шестакова
Екатерина Алексеевна**

**Роль жировой ткани в развитии сахарного диабета 2 типа:
гормональные, генетические и клеточные факторы**

3.1.19 – Эндокринология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Москва,
2021

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении
«Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный консультант:

Дедов Иван Иванович

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН

Официальные оппоненты:

Демидова Татьяна Юльевна

доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой эндокринологии лечебного факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Небиеридзе Давид Васильевич

доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела профилактики метаболических нарушений Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Романцова Татьяна Ивановна

доктор медицинских наук, профессор кафедры эндокринологии № 1 Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «___» _____ 2022 года в _____ часов на заседании диссертационного совета 21.1.045.01 при ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России по адресу: 117292, г. Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России и на сайте www.endocrincentr.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2022 года

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук

Мазурина Наталия Валентиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

Ожирение сохраняет лидирующие позиции среди наиболее распространенных неинфекционных пандемий современности, а ассоциированные с ожирением сердечно-сосудистые заболевания остаются ведущими причинами смертности населения в развитых странах [Дедов И.И. и соавт., 2021]. Одним из основных метаболических исходов ожирения является сахарный диабет 2 типа (СД 2). Однако, клинические исследования показывают, что среди пациентов с ожирением от 20 до 40% составляют пациенты без нарушений метаболизма углеводов [Романцова Т.И., 2017].

Причина сохранения нормогликемии при длительном течении ожирения у такого количества пациентов не ясна. Предполагается, что у лиц с ожирением без СД 2 имеются физиологические механизмы, защищающие их от развития нарушений углеводного обмена. К таким факторам могут относиться, например, антропометрические, а именно тип распределения жировой ткани: как известно, избыточное отложение жировой ткани в абдоминальной области ведет к большим метаболическим рискам, чем ее избыток в подкожной области. Однако на текущий момент нет четкого объяснения тому, с чем связан «диабетогенный» эффект именно абдоминального (висцерального) депо жировой ткани, а также по каким причинам одни пациенты более склонны к накоплению подкожного депо жира, а другие – висцерального.

Массы тела подвержена гормональной регуляции: большинство эндокринных заболеваний в той или иной степени приводят к накоплению жировой массы. Однако в клинической практике в лечении ожирения в настоящее время оказалось возможным использовать эффект только одной гормональной системы – инкретиновой. На основе главного инкретинового гормона – глюкагоноподобного пептида 1 типа (ГПП-1) – разработаны препараты, успешно использующиеся для снижения массы тела и профилактики развития нарушений углеводного обмена. В связи с этим исследование влияния эндогенного уровня ГПП-1 на риск развития нарушений углеводного обмена при ожирении является перспективным.

Принято считать, что наибольшее число случаев ожирения является алиментарным (экзогенно-конституциональным), тогда как доля моногенного ожирения крайне мала. Однако и алиментарное ожирение развивается под действием не только факторов окружающей среды, но и индивидуальной генетической предрасположенности [Драпкина О. М., 2020]. Эпигенетические модификации (т.е. взаимодействия генов с окружающей средой) являются факторами риска развития нарушений углеводного обмена при ожирении и потенциально могут быть использованы как прогностические маркеры.

С учетом резких отличий физиологии висцеральной и подкожной жировой ткани особый интерес представляет изучение клеточной биологии этих двух депо. Перспективным направлением исследований представляется изучение иммунофенотипа жировой ткани пациентов с различным статусом нарушений углеводного обмена, направленных на выяснение фундаментальных механизмов патогенеза СД 2 у больных с ожирением.

Цель исследования

Выявить совокупность антропометрических, гормонально-метаболических, клеточных и генетических факторов, влияющих на развитие нарушений углеводного обмена у пациентов с большой длительностью ожирения.

Задачи исследования

- 1) Оценить возможность сохранения нормальных показателей состояния углеводного обмена у лиц с длительным анамнезом ожирения
- 2) Оценить распределение депо жировой ткани у лиц с ожирением в зависимости от наличия нарушений углеводного обмена
- 3) Описать метаболический и гормональный профиль, отличающий пациентов с СД 2 от лиц без нарушений углеводного обмена при равной выраженности ожирения
- 4) Оценить динамику появления патофизиологических механизмов, способствующих развитию СД 2 в процессе увеличения массы тела (в эксперименте на лабораторных животных)
- 5) Охарактеризовать «обратную» динамику параметров, участвующих в регуляции углеводного обмена, у лиц с ожирением на фоне снижения массы тела
- 6) Определить возможность и устойчивость регресса патофизиологических механизмов развития СД 2 на фоне снижения массы тела
- 7) Выявить различия иммунофенотипа адипоцитов в различных депо жировой ткани (висцеральном и подкожном) у пациентов с ожирением и СД 2 по сравнению с лицами с ожирением без нарушений углеводного обмена
- 8) Выявить различия эпигенетических маркеров (микроРНК) в жировой ткани у пациентов с ожирением и СД 2 по сравнению с лицами с ожирением без нарушений углеводного обмена

Научная новизна исследования

Научная новизна исследования заключается в комплексном анализе возможных причин сохранения нормального углеводного обмена у лиц с ожирением.

На популяции пациентов с длительным (> 30 лет) анамнезом морбидного

ожирения впервые обозначена возможность сохранения нормогликемии у большой доли пациентов, что говорит о наличии у данных лиц протективных факторов, защищающих от развития СД 2.

Впервые было проведено исследование, проспективно изучающее последовательность нарастания патогенетических механизмов развития СД 2 по мере увеличения массы тела (в эксперименте), а также последовательность их регресса на фоне снижения массы тела и достижения нормогликемии у пациентов после хирургического лечения СД 2.

Сильной стороной исследования является оценка в одной когорте пациентов множественных параметров, отвечающих за регуляцию углеводного обмена: гормонально-метаболических, клеточных и генетических факторов. В ходе работы получены данные о различиях в метаболическом и гормональном профиле пациентов с ожирением и наличием/отсутствием СД 2, об иммунофенотипе адипоцитов в разных жировых депо, регенеративных свойствах адипоцитарных мезенхимальных стволовых клеток и особенностях транскриптома жировой ткани данных пациентов.

Впервые длительно в динамическом наблюдении оценивалось состояние секреции гормонов поджелудочной железы и инкретиновых гормонов при восстановлении нормогликемии у лиц с СД 2 после хирургического лечения ожирения. Описана хронология гормональных нарушений при нарастании массы тела, определена вторичность изменений секреции инкретиновых гормонов (ГПП-1 и ГИП) по мере развития ожирения и нарушений углеводного обмена. Обозначена патогенетическая роль гиперсекреции глюкагона в ответ на пищевую нагрузку не только при СД 2, но и при ожирении без нарушений углеводного обмена.

Новизна исследования заключалась в проведении сравнительных морфологических, иммуногистохимических исследований подкожной и висцеральной жировой ткани, полученной путем биопсии у пациентов с морбидным ожирением, а также в экспериментальном исследовании на лабораторных животных.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Определение предикторов более благоприятного прогноза течения ожирения без развития метаболических нарушений является одним из направлений персонализированной медицины. Выделение защитных биомаркеров позволит стратифицировать риск развития СД 2 у пациентов с ожирением с дальнейшим определением оптимальной частоты наблюдения за пациентами.

Теоретическая значимость исследования заключается в определении новых потенциальных мишеней для разработки таргетных препаратов с целью

профилактики и замедления развития СД 2.

Положения, выносимые на защиту

1. У лиц с длительным существованием морбидного ожирения возможно сохранение нормальных показателей углеводного обмена.
2. Факторами, влияющими на поддержание нормогликемии при длительном ожирении, являются низкая доля висцерального и эктопического жира, более низкие значения инсулинорезистентности, сохраненный ритм секреции гормонов поджелудочной железы и инкретиновых гормонов.
3. Развитие гипергликемии при нарастании массы жировой ткани и ее нормализация при снижении массы тела имеют различные триггеры: в развитии гипергликемии ключевым моментом является дезадаптация секреции гормонов поджелудочной железы и инкретинов в ответ на нарастающую массу тела и инсулинорезистентность; в нормализации гликемии при потере массы тела принципиальным является снижение массы висцерального жира и инсулинорезистентности даже при редуцированной секреции инсулина.
4. У пациентов с СД 2 после бариатрических вмешательств даже на фоне снижения массы тела и достижения нормогликемии не происходит полного восстановления секреции гормонов поджелудочной железы и инкретинов, что требует длительного наблюдения этих пациентов.
5. Жировая ткань пациентов с ожирением и СД 2 характеризуется гипертрофией адипоцитов, процессами латентного воспаления, сниженной пролиферативной активностью и сниженной адипогенной дифференцировкой мезенхимальной стволовой клетки жировой ткани, что обуславливает возрастание инсулинорезистентности и потенцирует прогрессирование нарушений углеводного обмена.

Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации

Автор лично сформировал рабочую гипотезу, научно обосновал методологическую основу исследования. Автором был спланирован дизайн исследования, определяющий возможность проверки рабочей гипотезы, а также организован сбор научного материала, осуществлены статистический анализ результатов исследования и написание статей.

Автором лично проведен осмотр и обследование более 200 пациентов, включенных в одномоментный и проспективный фрагменты исследования.

Автор лично участвовал в работе над экспериментальной частью работы, сформировал дизайн этого фрагмента, выполнил статистический анализ полученных результатов и написание статей.

Апробация диссертационной работы

Апробация диссертационной работы состоялась 27 июля 2021 года на заседании расширенной межинститутской конференции ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на российских и международных конференциях: III Всероссийский эндокринологический конгресс с международным участием, Москва, 2017; III Национальный конгресс по регенеративной медицине, Москва, 2017; VIII Всероссийский диабетологический конгресс, Москва, 2018; Российский национальный конгресс кардиологов, Москва, 2018; Национальный конгресс эндокринологов с международным участием «Персонализированная медицина и практическое здравоохранение», Москва, 2019; IV (XXVII) Национальный конгресс эндокринологов с международным участием «Инновационные технологии в эндокринологии», Москва, 2021; 50 ежегодный конгресс Европейской ассоциации по изучению сахарного диабета (50th EASD), Вена, Австрия, 2014; 5 международный конгресс «Диабет, ожирение и гипертензия: от противоречий к консенсусу» (5th CODHu), Стамбул, Турция, 2015; 4 конференция Европейской ассоциации молодых эндокринологов (4th EYES), Москва, 2016; 20 постдипломный курс Европейского общества эндокринологов (20th ESE Postgraduate Training Course), Москва, 2017; 56 ежегодный конгресс Европейской ассоциации по изучению сахарного диабета (56th EASD), 2020; 13 международная конференция по передовым технологиям в лечении диабета (13th ATTD), 2020; 80 научная сессия американской диабетологической ассоциации (80th ADA), 2020; Европейский и международный конгресс по ожирению (ECO/ICO), 2020; 14 международная конференция по передовым технологиям в лечении диабета (14th ATTD), 2021; 28 Европейский конгресс по ожирению (ECO), 2021.

Публикации

Всего по теме диссертации опубликовано 27 научных работ, 14 из которых опубликованы в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для изложения основных научных результатов диссертации.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на русском языке в объеме 219 страниц машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, главы результатов собственных исследований, главы обсуждения полученных результатов исследования, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 4 схемами, 31 таблицей и 89 рисунками. Список использованной литературы включает 198 источников: 30

отечественных и 168 зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Общий дизайн исследования

Исследование состояло из четырех частей, объединенных общей тематикой.

Задача первой части исследования состояла в оценке возможности сохранения нормогликемии у лиц с максимально длительным анамнезом ожирения. Эта часть исследования была ретроспективной, проведена на основе данных анкет, заполненных пациентами, пришедшими на амбулаторный прием к бариатрическому хирургу.

Вторая часть исследования имела поперечный дизайн, она заключалась в выделении лиц с различным метаболическим статусом (различным ИМТ и состоянием углеводного обмена). Во второй части было проведено сравнение выделенных групп по антропометрическим и клинико-лабораторным характеристикам.

В третьей проспективной части исследования фокус был направлен на пациентов с длительным (> 10 лет) и выраженным ($\text{ИМТ} \geq 35 \text{ кг/м}^2$) ожирением. Среди данных пациентов были отобраны две группы лиц с наличием и отсутствием СД 2, по остальным исходным характеристикам пациенты были сопоставимы. Всем пациентам в третьей части исследования были выполнены бариатрические вмешательства. Лабораторное обследование пациентов было проведено исходно, через 3 и 6 месяцев после операции. Благодаря динамическому наблюдению возможно было отследить последовательность поэтапной нормализации патофизиологических механизмов, участвующих в формировании нарушений углеводного обмена, по мере снижения массы тела. В третьей части исследования проводилась оценка гормональной секреции, выраженности ИР, определенной с помощью гиперинсулинемического эугликемического клэмп-теста, а также был сформирован банк образцов подкожной и висцеральной жировой ткани для проведения генетических и клеточных исследований.

Четвертая часть исследования также являлась проспективной и ставила перед собой задачу оценить нарастание патологических процессов, ответственных за развитие СД 2 на фоне увеличения массы тела. В нашей работе была выбрана модель лабораторных животных, получавших высококалорийное питание. По аналогии с третьей частью исследования животные были обследованы до начала введения высококалорийного прикорма, через 7 и 14 недель.

Общий дизайн исследования приведен на схеме 1.

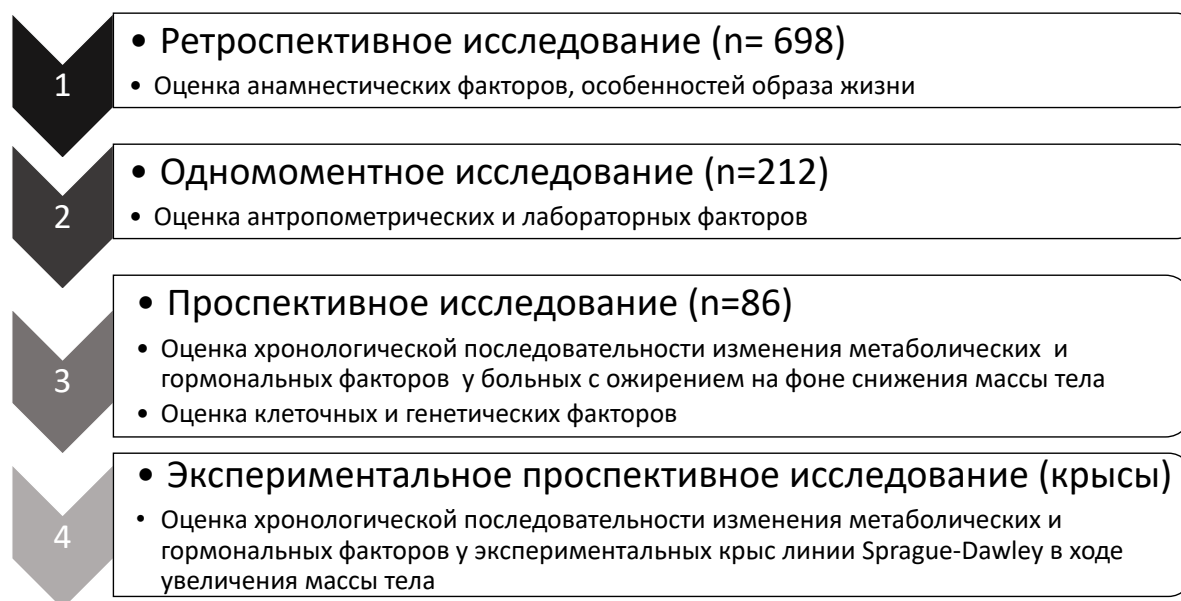


Схема 1. Части исследования

Часть 1. Ретроспективное исследование

Одноцентровое одномоментное сравнительное исследование было проведено на базе Центра эндохирургии и литотрипсии, Москва, Россия. В ходе исследования анализировались анкеты, заполненные пациентами, пришедшими на консультативный прием к бариатрическому хирургу в период с 2002 по 2017 гг.

Критерии включения:

1. пациенты обоих полов в возрасте от 18 лет;
2. ожирение (ИМТ ≥ 30 кг/м²);
3. визит на консультативный прием к бариатрическому хирургу.

Критерии исключения:

1. отсутствие указаний пациента на наличие/отсутствие нарушений углеводного обмена;
2. предиабет со слов пациента.

Дизайн исследования

Исследование проведено на основе данных анкет пациентов. Анкеты содержали информацию об антропометрических показателях (вес, рост), измеренных на приеме врача. В ходе приема врач просматривал медицинские документы и интервьюировал пациентов об анамнестических данных, характеристиках образа жизни и сопутствующих заболеваниях.

В ходе интервью фиксировались данные по различным показателям:

- демографические характеристики: возраст пациентов; статус курения в настоящий момент и в анамнезе,
- анамнез избыточной массы тела или ожирения,

- особенности пищевого поведения: частота приемов пищи в сутки; преимущественное употребление продуктов, богатых простыми углеводами или жирами; преимущественное время приема пищи (в дневное или вечернее время),
- сопутствующие заболевания, ассоциированные с ожирением.

При положительном ответе пациента на вопрос о наличии СД 2 или АГ врач уточнял длительность наличия (в годах) соответствующего диагноза.

Антропометрические показатели (вес, рост) регистрировались врачом-исследователем. Все остальные сведения указывались в анкете во время интервьюирования со слов пациентов. Время дебюта сопутствующих заболеваний и состояний, а также хронологический период, соответствующий особенностям образа жизни, не фиксировались.

ИМТ вычислялся как отношение массы тела (кг) к росту² (м²). Пиковый ИМТ соответствовал ИМТ, рассчитанному в период максимального веса пациента. Излишняя масса тела (%) определялась как процент превышения массы тела относительно ИМТ=25 кг/м² для каждого пациента:

$$(\text{Масса тела (кг)} - \text{рост (м}^2\text{)} \times 25) \times 100 / \text{масса тела (кг)}$$

Все пациенты подписывали информированное согласие на обработку данных и представление их в научных публикациях в обобщенной и обезличенной форме.

На основе указанных в анкете данных о наличии СД 2 пациенты были разделены на группу с известным СД 2 и группу с нормальным углеводным обменом. Проводилось сравнение указанных двух групп по всем характеристикам, отраженным в анкетных данных.

Часть 2. Одномоментное исследование

Во второй части исследования включались пациенты, проходившие обследование в 2017-2020 гг. в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. Исследовательская работа была одобрена локальным этическим комитетом (протокол №10 от 24.05.2017). Участники исследования подписали информированное письменное согласие для участия в клиническом испытании.

Критерии включения:

1. Лица обоих полов в возрасте 18 лет и старше
2. ИМТ $\geq 18,5$ кг/м²

Критерии исключения:

1. сахарный диабет 1 типа
2. уровень гемоглобина менее 70 г/л
3. скорость клубочковой фильтрации (СКФ) менее 60 мл/мин/1,73 м²
4. острое нарушение мозгового кровообращения, инфаркт миокарда в течение последнего месяца

5. резекция тонкой кишки в анамнезе
6. беременность
7. онкологические заболевания

Дизайн исследования

В соответствии с критериями включения и исключения в исследование были набраны три категории пациентов:

- Лица < 30 лет с ИМТ 18.5-25 кг/м² (контроль)
- Лица ≥ 30 лет с неизвестным статусом углеводного обмена
- Лица ≥ 30 лет с установленным диагнозом СД 2 на сахароснижающих препаратах (ССП).

Лицам с ранее неизвестным статусом углеводного обмена была проведена оценка уровня гликированного гемоглобина (HbA1c). Все пациенты с уровнем HbA1c ≥ 6% были отнесены к группе с нарушенным углеводным обменом (предиабетом и СД). В этом исследовании группы больных с нарушенным углеводным обменом (предиабетом и СД) объединялись и обозначались как «+СД». В зависимости от ИМТ и HbA1c были разделены на 4 группы: без ожирения и без СД (с HbA1c < 6%) («-Ожирение -СД»), без ожирения и HbA1c ≥ 6% («-Ожирение +СД»), с ожирением и HbA1c < 6% («+Ожирение - СД»), с ожирением и HbA1c ≥ 6% («+Ожирение +СД»).

Принцип формирования групп 2-ой части исследования представлен на схеме 2.

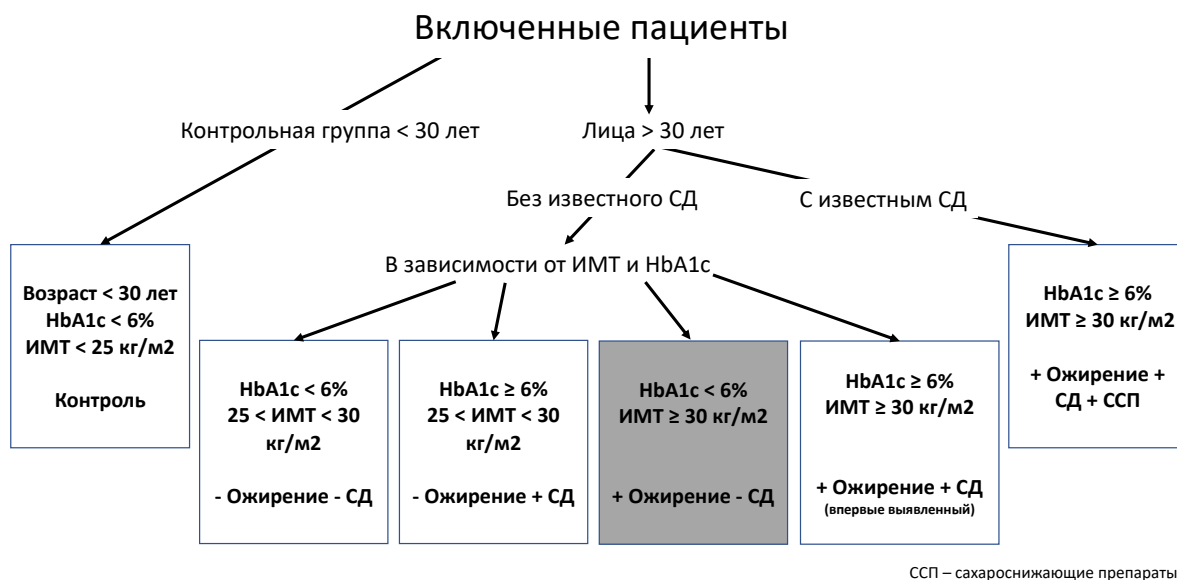


Схема 2. Принцип формирования групп второго этапа исследования

Протокол исследования

Всем пациентам были проведены антропометрические и лабораторные исследования. К антропометрическим исследованиям относились определение

роста, веса, расчет ИМТ, измерение ОТ, ОБ. Лабораторные исследования в контрольной группе и группе лиц без известных нарушений углеводного обмена проводились в ходе расширенного перорального глюкогозолерантного теста (ПГТТ) с 82,5 г моногидрата глюкозы. Все пациенты соблюдали правила проведения теста («Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом» / Под редакцией И.И. Дедова, М.В. Шестаковой, А.Ю. Майорова. – 10-й выпуск – М.; 2021.)

Пациентам с известным СД 2 был проведен тест со смешанной пищей (ММТ), для которого была использована смесь Oral Impact (Nestle Health Science, Швейцария): 1 порция (237 мл) содержит 18 г белков, 9,2 г жиров, 44,8 г углеводов. При проведении ММТ последний прием любых сахароснижающих препаратов происходил не позже, чем за 12 ч до начала теста.

В ходе ПГТТ и ММТ забор крови проводился натощак, через 30 и 120 минут. Обследование на 30-й минуте проводилось для оценки выраженности пиковой секреции исследуемых гормональных показателей. В процессе теста не разрешались прием пищи, курение, физическая нагрузка.

Образцы крови на 0, 30 и 120-й минутах брали в 1 пробирку для сыворотки с разделительным гелем (биохимические показатели), и в 2 пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) и аprotинином (гормональные показатели), центрифугировали при температуре +4С на скорости 3000 об/мин в течение 15 минут после взятия; глюкоза, биохимические показатели и инсулин определялись в день взятия крови. Из одной пробирки с ЭДТА и аprotинином после центрифугирования отделяли плазму и замораживали при -80 °С для последующего определения ГПП-1 и ГИП.

Во всех трех временных точках ПГТТ/ММТ оценивались уровень глюкозы, иммунореактивного инсулина, ГПП-1, ГИП (ELISA). Гликированный гемоглобин (HbA1c) и липидный спектр (общий холестерин, липопротеиды низкой плотности (ЛПНП), липопротеиды высокой плотности (ЛПВП), триглицериды) оценивались натощак. Для каждого исследуемого гормонального показателя (ГПП-1, ГИП) рассчитывали площади под кривой.

Расчетные показатели

ИМТ рассчитывался по формуле: масса тела (кг)/рост (см²)

Индекс инсулинорезистентности (НОМА-IR) вычислялся по формуле:
глюкоза натощак (ммоль/л) x инсулин натощак (мкЕд/мл)/22,5

Значение индекса НОМА-IR $\geq 2,7$ расценивалось как состояние инсулинорезистентности.

Базальная секреция инсулина была оценена с помощью гомеостатической модели определения функции β -клеток (НОМА-%В). Индекс НОМА-%В рассчитывался в процентном соотношении по формуле:

$20 \times \text{инсулин натощак (мкЕд/мл)} / \text{Глюкоза натощак} - 3,5 \text{ (ммоль/л)}$

Стимулированная секреция инсулина (1-я фаза секреции инсулина) была оценена по индексу инсулиногенности (ИИ), рассчитанному как соотношение прироста секреции инсулина к приросту гликемии в первые 30 мин ПГТТ или ММТ: $\text{Инсулин } 30' - \text{инсулин натощак (мкЕд/мл)} / \text{Глюкоза } 30' - \text{глюкоза натощак (ммоль/л)}$

Часть 3. Проспективное исследование

Набор пациентов и клиническое обследование проводились на базе ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России с 2016 по 2019 гг. Хирургические вмешательства также проводились в следующих учреждениях: ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России, АО «Центр эндохирургии и литотрипсии», ЦКБ №1 – филиал НУЗ «НКЦ ОАО «РЖД»» и ЦКБ №6 ОАО «РЖД».

Исследовательская работа была одобрена локальным этическим комитетом (протокол №16 от 12.10.2016). Участники исследования подписали информированное письменное согласие для участия в клиническом испытании.

Критерии включения:

1. Лица обоих полов в возрасте 30 лет и старше
2. $\text{ИМТ} \geq 35 \text{ кг/м}^2$
3. Длительность ожирения 10 лет и более
4. Планируемое проведение бариатрического вмешательства (продольной резекции желудка/ гастрощунтирования по Ру/ билиопанкреатического шунтирования в модификации SADI)

Критерии исключения:

1. СД 1
2. уровень гемоглобина менее 70 г/л
3. СКФ менее 60 мл/мин/1,73 м²
4. прием агонистов рецепторов ГПП-1 до включения в исследование
5. острое нарушение мозгового кровообращения, инфаркт миокарда в течение последнего месяца
6. операции на тонкой кишке в анамнезе
7. беременность
8. онкологические заболевания

9. невозможность посещать исследовательский центр для проведения послеоперационного наблюдения

Дизайн и протокол исследования

Всем включенным пациентам было проведено обследование исходно (до операции), а также через 3 и 6 месяцев после оперативного вмешательства. В таблице 2 представлен протокол исследования. В зависимости от исходного наличия СД 2 пациенты разделены на группы с СД 2 и без.

В таблице 1 представлен протокол исследования.

Таблица 1. Протокол исследования

	Исходно (n=86)	3 месяца после оперативного вмешательства (n=86)	6 месяцев после оперативного вмешательства (n=86)
Измерение роста	+	-	-
Измерение веса, расчет ИМТ	+	+	+
Оценка ОТ, ОБ	+	+	+
Оценка композиционного состава тела	+	+	+
Биохимическое исследование крови натощак	+	+	+
Расширенный тест с углеводной нагрузкой (оценка гликемии и гормональных параметров)	+	+	+
Гиперинсулинемический эугликемический клэмп-тест	+	+	+
Оценка суррогатных маркеров инсулинорезистентности и секреции инсулина	+	+	+
Биопсия подкожной и висцеральной жировой ткани	+	-	-

Определение композиционного состава тела

Для оценки количества общего и висцерального жира всем больным проведена биоимпедансометрия натощак с помощью анализатора (Body composition analyzer Tanita MC-780MA, TANITA Corporation, Япония). В качестве оценки количества висцеральной жировой ткани применялся висцеральный индекс (от 1-го до 55-го уровня). Один уровень соответствует 10 см² висцеральной

жировой ткани на уровне межпозвонкового диска L4–L5. Общее количество жира в организме отражено в процентном соотношении к общей массе тела.

Расширенный тест с углеводной нагрузкой

У лиц без известных нарушений углеводного обмена проводился ПГТТ, у лиц с анамнезом СД 2 проводился тест со смешанной пищей (ММТ) на фоне отмены сахароснижающих препаратов не позже, чем за 12 часов до проведения теста. Во всех трех временных точках ПГТТ/ММТ оценивались уровень глюкозы, иммунореактивного инсулина, глюкагона, ГПП-1, ГИП, глицентина, оксинтомодулина.

Лабораторные методы исследования

Биохимическое исследование включало определение уровня гликированного гемоглобина, глюкозы, общего холестерина, холестерина ЛПНП, холестерина ЛПВП, триглицеридов, креатинина.

Гормональные исследования включали определение уровня инсулина, суммарного уровня ГПП-1, ГИП, глюкагона, глицентина, оксинтомодулина.

Гиперинсулинемический эугликемический клэмп-тест

Гиперинсулинемический эугликемический клэмп-тест был проведен в день, альтернативный дню проведения теста с углеводной нагрузкой, по классической методике R. DeFronzo [DeFronzo R. A., et al. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance, 1979]. За 48 ч до клэмп-теста пациентам был отменен прием метформина в связи с его влиянием на уровень ИР. Последний прием любых сахароснижающих препаратов происходил не позже, чем за 12 ч до клэмп-теста.

Выражением ИР, определенной с помощью клэмп-теста, служит М-индекс, рассчитываемый как среднее арифметическое из 6–8 дискретных значений скорости инфузии глюкозы в течение 30–40 мин равновесного состояния деленное на массу тела за 1 мин. Таким образом, М-индекс отражает количество поглощаемой глюкозы одним килограммом тела пациента в минуту (мг/кг в минуту). Градациями степени тяжести ИР по данным М-индекса были приняты следующие значения: ≤ 2 — тяжелая, $>2-4$ — средняя; $>4-6$ — легкая степень, >6 — нет ИР [Майоров А.Ю., 2009].

Расчетные показатели

Индекс утилизации глюкозы - индекс, предложенный для оценки способности β -клеток секретировать нужное количество инсулина для преодоления ИР. Для расчета этого показателя у каждого пациента используется формула: ИИ \times М-индекс.

Прирост глюкагона (1-я фаза секреции глюкагона) был рассчитан по формуле: Глюкагон 30' – глюкагон натощак (пмоль/л)/Глюкоза 30' – глюкоза натощак (ммоль/л)

Отмена сахароснижающих препаратов у пациентов с СД 2

После бариатрического вмешательства у пациентов с исходным СД 2 наблюдалась компенсация углеводного обмена. При достижении пациентами устойчивых значений гликемии натощак менее 6,5 ммоль/л, постпрандиальной гликемии менее 8 ммоль/л производилась постепенная коррекция (вплоть до отмены) сахароснижающей терапии.

Исследование на культуре клеток жировой ткани

Данный фрагмент исследования проведен совместно с сотрудниками ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» (факультет фундаментальной медицины, кафедра биохимии и молекулярной медицины) и сотрудниками ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава РФ, лаборатория ангиогенеза.

В ходе бариатрических вмешательств у всех пациентов проводился забор образцов подкожной (из области передней брюшной стенки) и висцеральной (из области малого сальника) жировой ткани. Исследование проводили на срезах, приготовленных из замороженных гистохимических блоков биопсий, которые были получены в ходе бариатрических операций, с последующей фиксацией в ледяном ацетоне. Образцы обрабатывали первичными антителами к CD68, CCR7, CD206 с последующим окрашиванием вторичными антителами, конъюгированными с красителями AlexaFluor488 и AlexaFluor594, ядерное окрашивание DAPI. Флуоресцентную микроскопию проводили на микроскопе Zeiss Axio Observer A1 (Zeiss, Германия). Среднюю площадь адипоцитов, процент инфильтрации жировой ткани общей популяцией макрофагов, а также содержание M1- и M2-макрофагов оценивали в программе ImageJ.

Дополнительно биоптаты подкожной и сальниковой жировых тканей очищали от сосудов и фрагментов соединительной ткани, измельчали до консистенции суспензии и проводили мягкое энзиматическое выделение мезенхимальной стволовой клетки жировой ткани (МСК ЖТ) с использованием коллагеназы I типа и диспазы, после чего культивировали МСК ЖТ при 37°C, 5% CO₂. Для дифференцировки в адипогенном направлении МСК ЖТ доращивали до конфлюэнтности 90-100%, после чего в течение 2 дней культивировали клетки в присутствии 0.5 мМ дексаметазона, 0.25 мкМ изобутилметилксантина, 2 мкМ розиглитазона и 1 мкг/мл инсулина. Затем среду заменяли на DMEM HG + 10% FBS + 1 мкг/мл инсулина на 2 дня. Указанную схему смены сред использовали в течение 20 дней. На 21 день оценивали эффективность адипоцитарной дифференцировки с помощью окраски липофильным красителем OilRedO, а также с помощью ПЦР с обратной транскрипцией в реальном времени на маркеры адипоцитарной дифференцировки.

Анализ FBS-индуцированной пролиферативной активности МСК подкожной жировой ткани проводили с помощью МТТ-теста, основанного на превращении 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-диметилтетразолийбромида в формазан, который солюбилизировали в изопропанолe и измеряли оптическую плотность продукта при длине волны 595 нм на планшетном фотометре Multiscan Microplate Reader (Labsystems, США). Оценку распределения МСК ЖТ по фазам клеточного цикла выполняли с помощью набора реактивов Propidium Iodide Flow Cytometry Kit (Abcam, США).

Выделение тотальной РНК из образцов жировой ткани проводили с помощью RNeasy Lipid Tissue Mini Kit («Qiagen», Германия) согласно инструкции компании-производителя на автоматической станции QIAcube («Qiagen», Германия) по протоколу для тотальной РНК с одновременной обработкой ДНКазой с помощью RNase-Free DNase Set («Qiagen», Германия). Концентрацию суммарной РНК в водном растворе оценивали на спектрофотометре NanoVue Plus («GE Healthcare», Великобритания). Для дальнейшей работы отбирали образцы с концентрацией суммарной РНК в водном растворе не ниже 10 нг/мкл. Обратная транскрипция осуществлялась с помощью High-Capacity RNA-to-cDNA Kit («Applied Biosystems», США) с общим количеством РНК 1000 нг/реакцию. Осуществлялся контроль наличия примеси геномной ДНК в растворе РНК с помощью набора для ПЦР TaqMan Fast Universal PCR MasterMix («Applied Biosystems», США) и праймеров для гена *GAPDH*.

Было проведено полногеномное секвенирование образцов для оценки профилей экспрессии мРНК и микроРНК, проведен комплексный статистический анализ экспрессии мРНК и микроРНК. Были обнаружены микроРНК, показавшие наибольшие отличия в экспрессии, после чего проведена валидация дифференциально экспрессирующихся микроРНК с помощью ПЦР в реальном времени с последующей валидацией предсказанных мишеней мРНК. Для проведения ПЦР в реальном времени использовали набор реактивов для ПЦР в реальном времени, краситель SYBR Green (Синтол, Россия). Реакцию проводили в автоматической ПЦР-системе StepOnePlus (Applied Biosystems, США) в формате 96-луночного планшета с компьютерной регистрацией данных.

Этап 4. Экспериментальное исследование

Цель четвертого этапа заключалась в моделировании развития ожирения у экспериментальных животных и оценке последовательности развития патогенетических изменений на фоне увеличения массы тела. Работа с животными была проведена в ФГБНУ «Научный центр неврологии» Минобрнауки России, лабораторные определения – в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» МЗ РФ.

Дизайн исследования

Дизайн работы представлен на схеме 3.

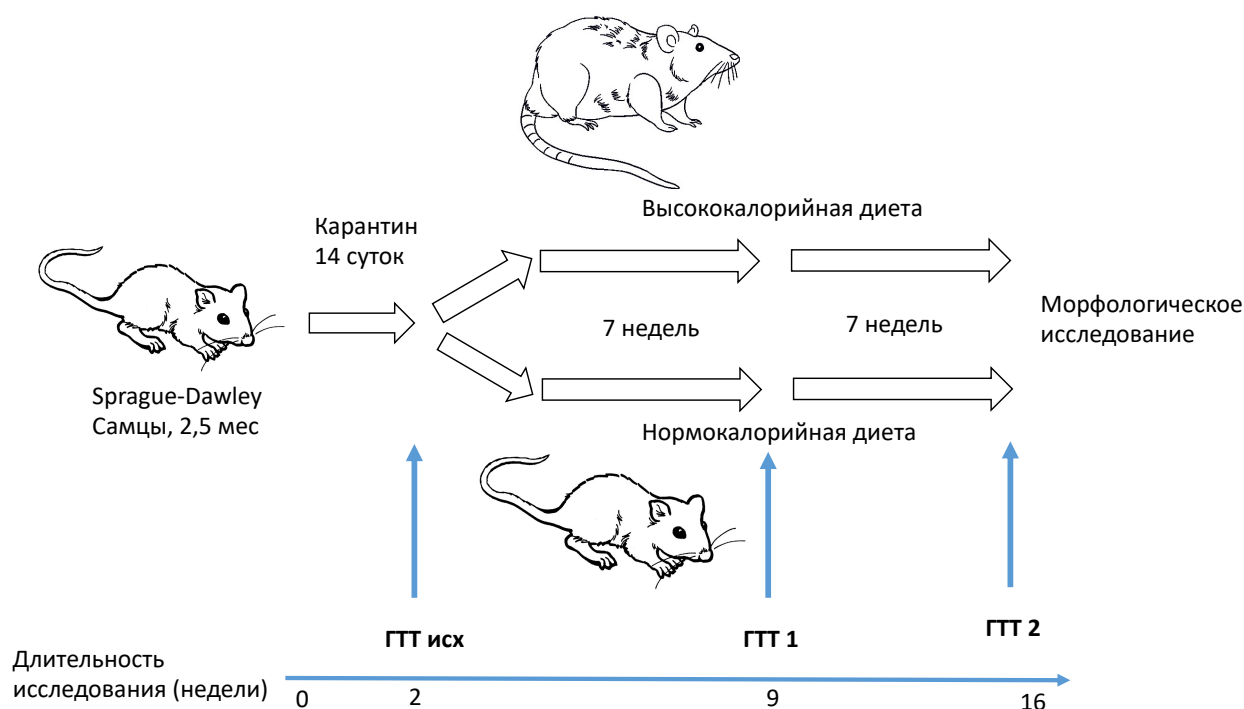


Схема 3. Дизайн экспериментального этапа исследования

Эксперимент проводился на крысах-самцах линии Sprague Dawley ($n=20$). По окончании карантина животные были поделены на 2 группы, по 10 особей в каждой. Животным контрольной группы была назначена диета, включающая только полнорационный комбикорм для содержания лабораторных животных. Животные второй группы (высококалорийное питание) помимо комбикорма в том же количестве, что и животные первой группы, ежедневно получали обогащение рациона. В данной работе использовалось несколько вариантов обогащенной диеты, в виду того, что животные на определенном этапе отказывались употреблять предложенную им кормосмесь.

Глюкозотолерантный тест

Глюкозотолерантный тест (ГТТ) проводился животным трижды: по окончании карантина (ГТТ исх), через 7 недель (ГТТ 1) и 14 недель (ГТТ 2) после разделения на группы. Во время ГТТ раствор глюкозы вводили внутрибрюшинно в дозе 1,5 мг/ кг после 8-10 часовой пищевой и питьевой депривации.

Определение инсулина, уровней суммарного ГПП-1, суммарного ГИП проводилось методом ИФА с использованием наборов IBL (США), определение глюкагона - наборами компании Mercodia (Швеция). Наборы специфичны по отношению к определению гормональных показателей у крыс.

Этическая экспертиза

Исследование было проведено в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986); Приказом МЗ РФ № 119 Н от 1 апреля 2016 г. «Об утверждении Правил лабораторной практики», Principles of Good Laboratory Practice (OECD, ENV/ MC/ CUEM (98)17, 1997); ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (идентичен GLP OECD); со статьей 11 Федерального закона от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (ред. от 22.10.2014).

Морфологическое и иммуногистохимическое исследование

Образцы жировой ткани (подкожный и висцеральный жир), печени и поджелудочной железы фиксировали 4% формалином после чего пропитывали 30% сахарозой и замораживали в среде О.С.Т (Tissue Tek). Окраска проводилась в 0,5% растворе масляного красного в пропиленгликоле, предварительно нагретом до 45-50 °С.

Часть образцов жировой ткани использовали для выявления макрофагов иммунофлуоресцентным методом. Срезы инкубировали с моноклональными кроличьими антителами (Abcam) к белку IBA1 - маркеру макрофагов. Для визуализации связывания использовали антитела козы против иммуноглобулинов кролика, конъюгированные с флуорохромом CF488 (Sigma). Флуоресцентные препараты заключали в среду Fluoroshield с DAPI (для выявления ядер клеток).

Для анализа препаратов применяли микроскоп Nikon Eclipse Ni-и с камерой Ds-Qi1 и программу анализа изображений NIS Elements. Площадь адипоцитов оценивали вручную обводя профиль клетки на изображении, полученном при увеличении объектива x10, используя графический планшет Wacom. Для оценки количества жировой ткани в поджелудочной железе брали по одному срезу с пяти фрагментов, взятых из разных областей, суммарной площадью 40-70 мм² на животное. Измеряли площадь среза и оценивали долю в %, занимаемую адипоцитами. Оценку жировой инфильтрации печени проводили фотометрически, использовали интерференционный фильтр 521/7 нм, и на 12-битном изображении оценивали плотность окрашивания.

Статистический анализ

Статистическую обработку данных выполняли в программе Statistica 13.3. Распределения количественных признаков представлены в виде медиан и межквартильного интервала (1 и 3 квартили) – Me [Q1; Q3]. U-критерий Манна-Уитни был применен для сравнения количественных данных двух независимых выборок. При анализе зависимых выборок был использован ранговый дисперсионный анализ Фридмана, для сравнения динамики значений переменных

внутри одной группы - критерий Вилкоксона. Качественные данные представлены в виде абсолютных (n) и относительных (%) частот. Сравнение качественных переменных в независимых выборках выполнялось с помощью критерия χ^2 Пирсона. Для коррекции проблемы множественных сравнений применялась поправка Бонферрони, статистическая значимость различий устанавливалась на 1 этапе при $p < 0,001$, на втором этапе при $p < 0,01$, на третьем этапе при $p < 0,0005$, на четвертом этапе при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Часть 1. Результаты ретроспективного исследования

В исследование по определению возможности сохранения нормогликемии у лиц с длительным анамнезом ожирения, а также оценке анамнестических и антропометрических факторов, влияющих на развитие СД 2 у лиц с ожирением, были включены 698 пациентов, пришедших на консультативный прием к бариатрическому хирургу. Пациенты были разделены на две группы: группу пациентов, сообщивших о наличии СД 2 ($n=170$), и группу пациентов без известных им нарушений углеводного обмена ($n=528$).

В таблице 2 представлены характеристики пациентов с СД 2 и отсутствием нарушений углеводного обмена.

Таблица 2. Демографические характеристики и особенности образа жизни пациентов с известным СД 2 типа и с нормальным углеводным обменом на фоне ожирения

	Известный СД 2 + ожирение		Нормальный углеводный обмен + ожирение		p*
	Описательная статистика	N	Описательная статистика	N	
Пол муж (n, %)	71 (41,8%)	170	181 (34,3%)	528	0,07721
Возраст, годы	50 [42; 57] min=21, max=71	170	40 [33; 48] min=18, max=75	524	0,000000
Возраст к моменту развития СД 2, годы	45 [38; 51] min=19, max=65	118			0,000014
Длительность СД 2, годы	5 [3; 9] min=0,5, max=24	118	---	---	---
Длительность избыточной массы тела или ожирения, годы	20 [15; 33] min=2, max=55	169	18 [10; 27] min=1, max=65	521	0,000810
Длительность избыточной массы тела или ожирения к моменту развития СД2, годы	16 [8; 26] min=0, max=26	116			0,038445
ИМТ (кг/м ²)	46,5 [38,5; 54,3]	169	44,2 [38,8; 51,5]	522	0,211353

Наличие избыточной массы тела или ожирения в детском возрасте (n, %)	63 (37,1%)	170	280 (53,1%)	527	0,00027
Возраст дебюта избыточной массы тела или ожирения, годы	25 [10; 34]	131	17 [8,5; 27]	420	0,000207
Пиковый ИМТ (кг/м ²)	48,4 [40,2; 56,1]	157	45,8 [39,9; 53]	476	0,082921
Наличие семейного анамнеза ожирения (n, %)	120 (71,9%)	167	323 (63,8%)	506	0,05806
Родственники с анамнезом ожирения (n, %)		116		318	0,12274
Близкие (родители, сибсы)	83 (71,6%)		194 (61%)		
Дальние (бабушки, дедушки, тети, дяди)	13 (11,2%)		53 (16,7%)		
Близкие и дальние	20 (17,2%)		71 (22,3%)		
Максимальный вес достигнут в течение последнего года (n, %)	80 (50,3%)	159	328 (68,5%)	479	0,00004
Частое употребление сладостей (n, %)	57 (34,3%)	166	189 (37%)	511	0,53757
Частое употребление жирных продуктов (n, %)	113 (71%)	159	349 (70,7%)	494	0,91908
Преимущественный прием пищи в вечернее время (n, %)	110 (74,3%)	148	375 (77,6%)	483	0,40272
Частота приемов пищи (n, %)		164		516	0,05889
1-2 раза в день	18 (11%)		87 (16,9%)		
3 раза в день	63 (38,4%)		209 (40,5%)		
4-5 раз в день	53 (32,3%)		161 (31,2%)		
> 5 раз в день	30 (18,3%)		59 (11,4%)		
Наличие попыток к снижению массы тела (n, %)	147 (88,6%)	166	496 (95,4%)	520	0,00157
Курение в настоящий момент и в прошлом (n, %)	55 (32,5%)	169	206 (39,5%)	522	0,10684

Примечание. *Использован критерий Манна–Уитни для количественных признаков (представлены медианы [Q1; Q3]), χ^2 Пирсона для качественных признаков (представлены абсолютные и относительные (%) частоты), N — число пациентов с указанным в анкете признаком.

Распространенность СД 2 ожидаемо возрастала с увеличением возраста пациентов ($\chi^2=23,9$, $p=0,00003$), но не зависела от степени ожирения ($\chi^2=3,57$, $p=0,311$), от величины пикового ИМТ ($\chi^2=1,88$, $p=0,597$), а также от длительности избыточного веса или ожирения ($\chi^2=9,24$, $p=0,026$). На рисунке 1 представлены доли пациентов с различным состоянием углеводного обмена в зависимости от длительности ожирения.

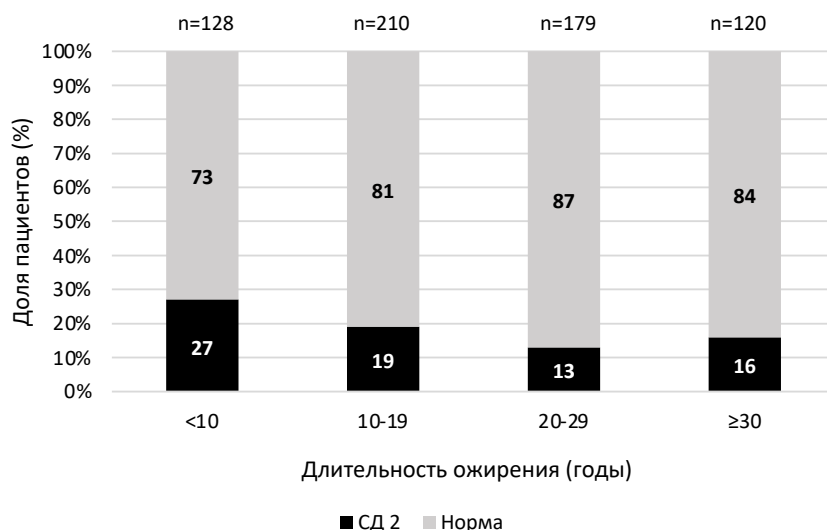


Рисунок 1. Доли пациентов с СД 2 и без нарушений углеводного обмена («норма») при различной длительности избыточного веса или ожирения.

Часть 2. Результаты одномоментного исследования

Общая популяция включенных пациентов составила 212 человек с различным метаболическим статусом (различным ИМТ и уровнем HbA1c). Для дальнейшего анализа общая популяция была разделена на 6 групп пациентов.

Антропометрические характеристики включенных пациентов и HbA1c представлены в таблице 3.

Таблица 3. Антропометрические характеристики включенных пациентов (данные представлены в виде Ме [25;75])

Название, численность и номер группы	Контроль n=18 0	- Ожирение - СД n=26 1	- Ожирение + СД n=34 2	+ Ожирение - СД n=45 3	+ Ожирение + СД n=47 4	+ Ожирение + СД + ССП n=42 5	p (в скобках – номера групп, по отношению к которым есть различия с группой 3)
Возраст (годы)	22 [21; 22]	51,5 [41; 59]	65 [56; 72]	48 [44; 56]	56 [48; 66]	48,5 [42; 54]	<0,001 (0, 2) 0,002 (4)
Пол (м/ж)	8/10 (44,4%/ 55,6%)	13/13 (50%/ 50%)	20/14 (58,8%/ 41,2%)	14/31 (31,1%/ 68,9%)	22/25 (46,8%/ 53,2%)	17/25 (40,5%/ 59,5%)	0,013 (2)
ИМТ (кг/м ²)	21,8 [19,9; 23,6]	26,6 [25,7; 28,6]	27,2 [25,3; 28,4]	41,0 [36,5; 45,8]	37,7 [34,2; 42,0]	42,3 [39,1; 48,3]	<0,001 (0,1,2)
HbA1c (%)	5,1 [4,8; 5,2]	5,6 [5,2; 5,8]	6,4 [6,2; 6,9]	5,6 [5,3; 5,8]	6,4 [6,2; 7,2]	8,0 [7,2; 8,7]	<0,001 (0,2,4,5)

В исследуемых группах проводилась диагностика преимущественного типа ожирения (висцеральное/ подкожное) на основании двух показателей: ОТ и соотношения ОТ/ОБ. На рисунке 2 представлены различия данных показателей во всех группах.

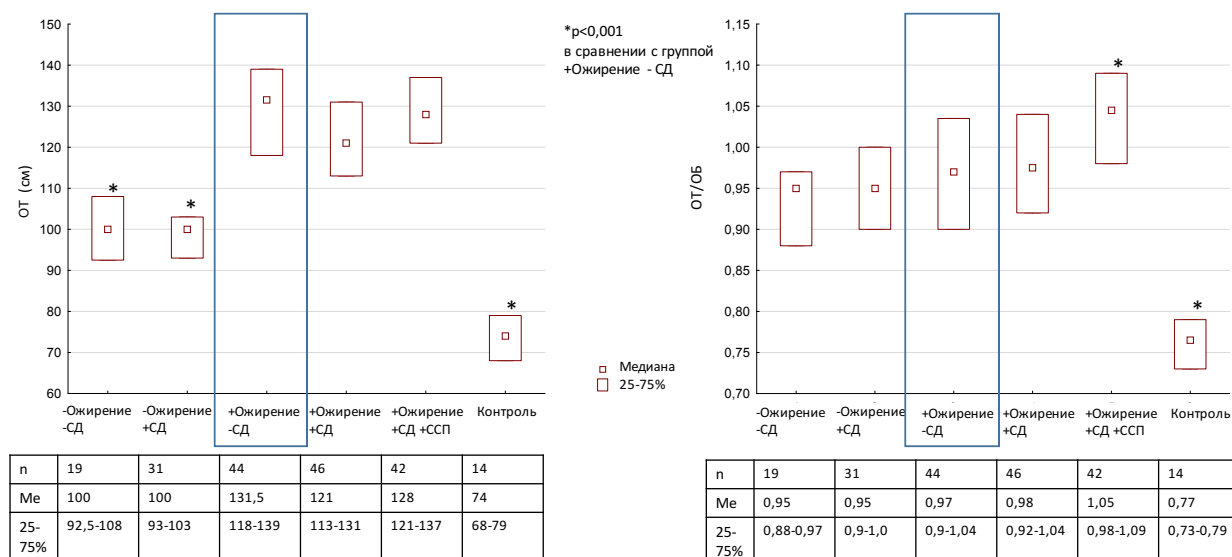


Рисунок 2. Сравнение показателей ОТ и ОТ/ОБ в исследуемых группах

Примечание (здесь и далее в разделе): статистические различия указаны для группы «+Ожирение -СД» в сравнении с остальными группами. Данные представлены в виде Me [25;75]; n- число проведенных измерений

Степень ИР определялась по суррогатному маркеру НОМА-IR (определен у 198 пациентов, имеющих показатель уровня базального инсулина) (рис. 3).

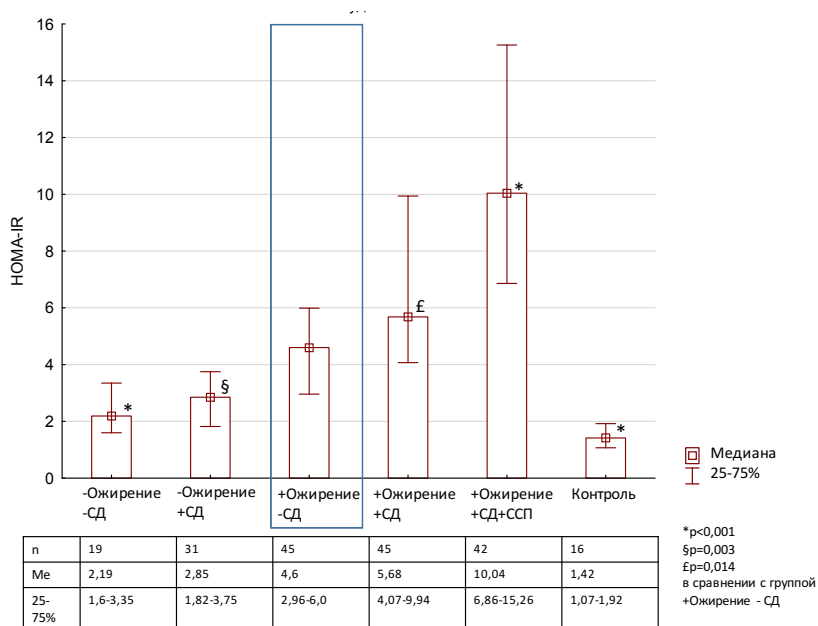


Рисунок 3. Сравнение показателя НОМА-IR в исследуемых группах.

Для оценки базальной секреции инсулина у пациентов был использован расчетный индекс НОМА-%В, для характеристики стимулированной (1-й фазы) секреции инсулина — индекс инсулиногенности (ИИ) (рис. 4).

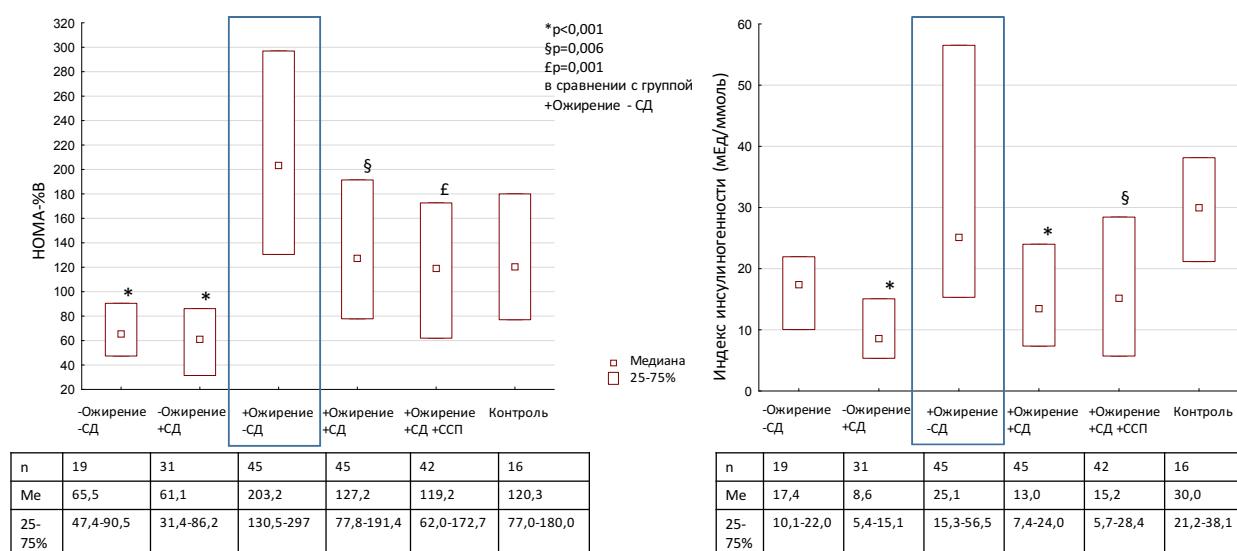


Рисунок 4. Сравнение показателей НОМА-%В и индекса инсулиногенности в исследуемых группах

Часть 3. Результаты проспективного исследования

В зависимости от исходного наличия СД 2 пациенты проспективного этапа исследования были разделены на группы с СД 2 (n=42) и без (n=44). Исходные клинические характеристики пациентов обеих групп представлены в Таблице 4.

Таблица 4. Исходные антропометрические и клинические характеристики пациентов с ожирением без нарушений углеводного обмена и с СД 2

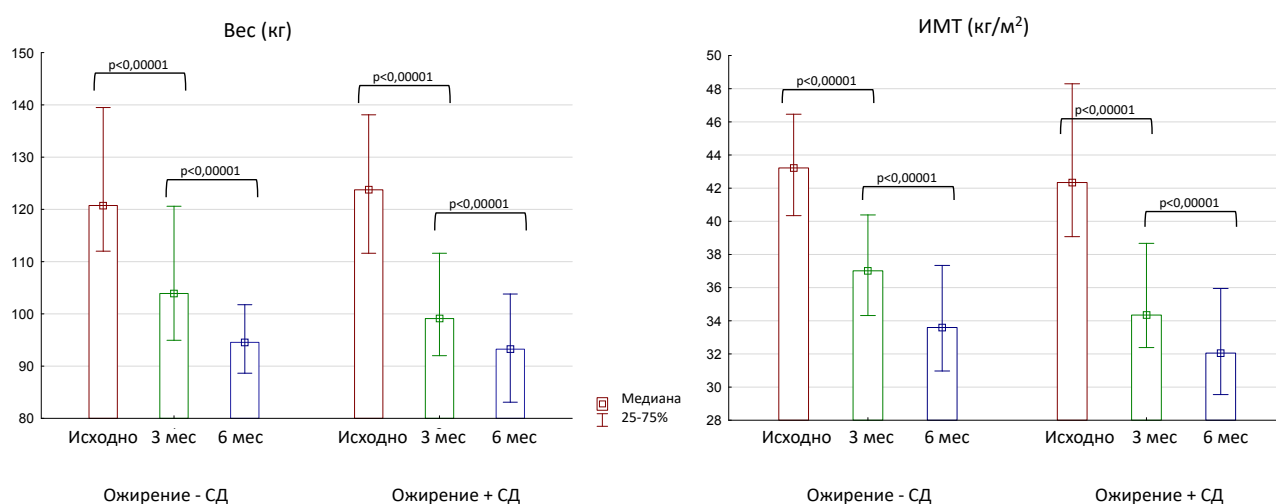
Показатель	Ожирение - СД (n=44)	Ожирение + СД (n=42)	P
Пол (м/ж) чел/%	10/34 (23/77%)	17/25 (40/60%)	0,076
Возраст (годы)	45,5 [40,5; 49]	48,5 [42; 54]	0,019
Вес (кг)	121 [112; 140]	124 [112; 138]	0,688
Рост (см)	169,5 [163,5; 175]	168 [163; 178]	0,907
ИМТ (кг/м ²)	43,2 [40,3; 46,5]	42,3 [39,1; 48,3]	0,826
Окружность талии (ОТ, см)	133 [128; 140]	128 [121; 137]	0,042
Окружность бедер (ОБ, см)	128,5 [118; 136]	127 [115; 132]	0,201
ОТ/ОБ	1,05 [0,99; 1,12]	1,05 [0,99; 1,09]	0,782
НbA1c (%)	5,5 [5,3; 5,8]	8,0 [7,2; 8,7]	<0,0003
Общий холестерин (ммоль/л)	5,4 [4,7; 5,8]	5,3 [4,5; 6,1]	0,839
ЛПНП (ммоль/л)	3,3 [2,9; 3,7]	3,4 [2,9; 4,1]	0,278
ЛПВП (ммоль/л)	1,1 [1,0; 1,5]	1,1 [1,0; 1,3]	0,397
Триглицериды (ммоль/л)	1,4 [1,0; 2,0]	2,6 [1,7; 3,4]	<0,0003

Длительность ожирения (годы)	18 [15; 25]	20 [15; 27]	0,120
Длительность СД (годы)	-	9 [6; 12]	-

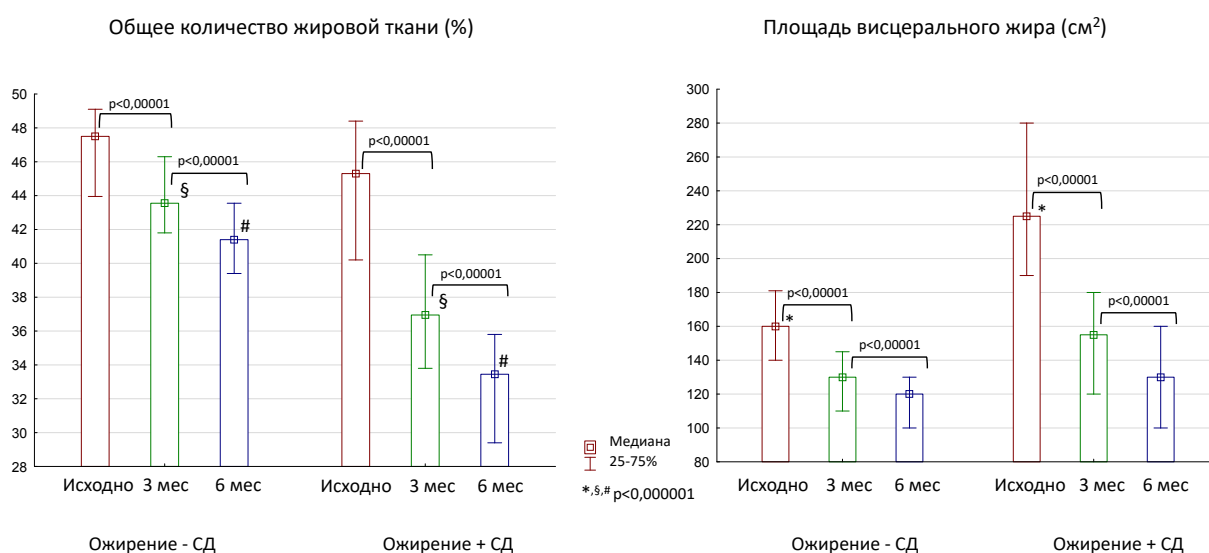
Примечание: сравнение количественных признаков – с помощью критерия Манн-Уитни, качественные – хи-кв. Пирсона, n - число пациентов с измеренным показателем

После бариатрического оперативного вмешательства у пациентов обеих групп как без нарушений углеводного обмена, так и с СД 2 наблюдалось снижение массы тела, выраженности абдоминального ожирения, снижение гликемии и улучшение липидного спектра (рис. 5 А-Г).

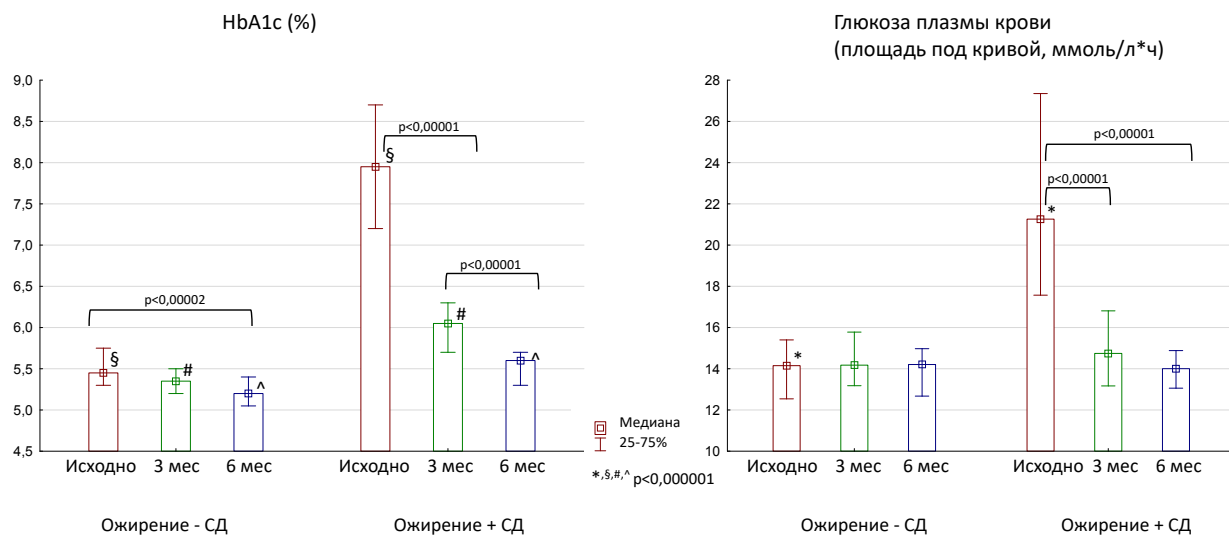
А



Б



В



Г

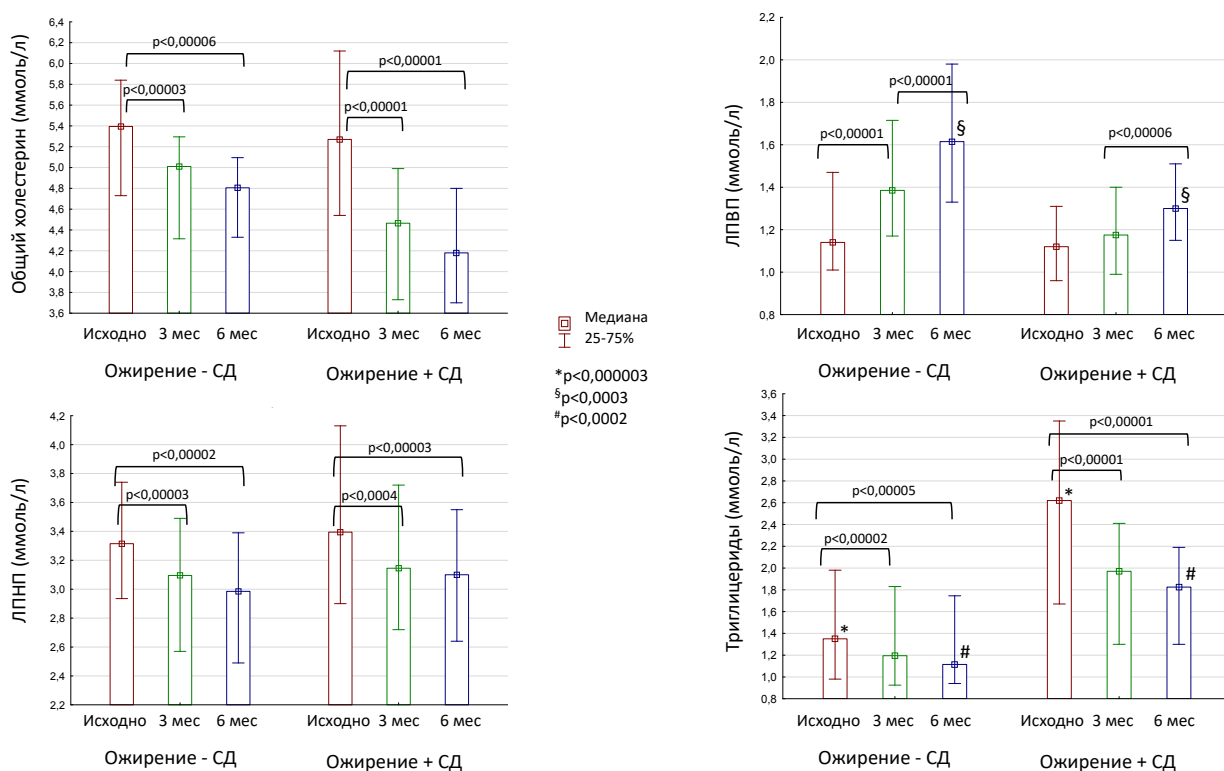
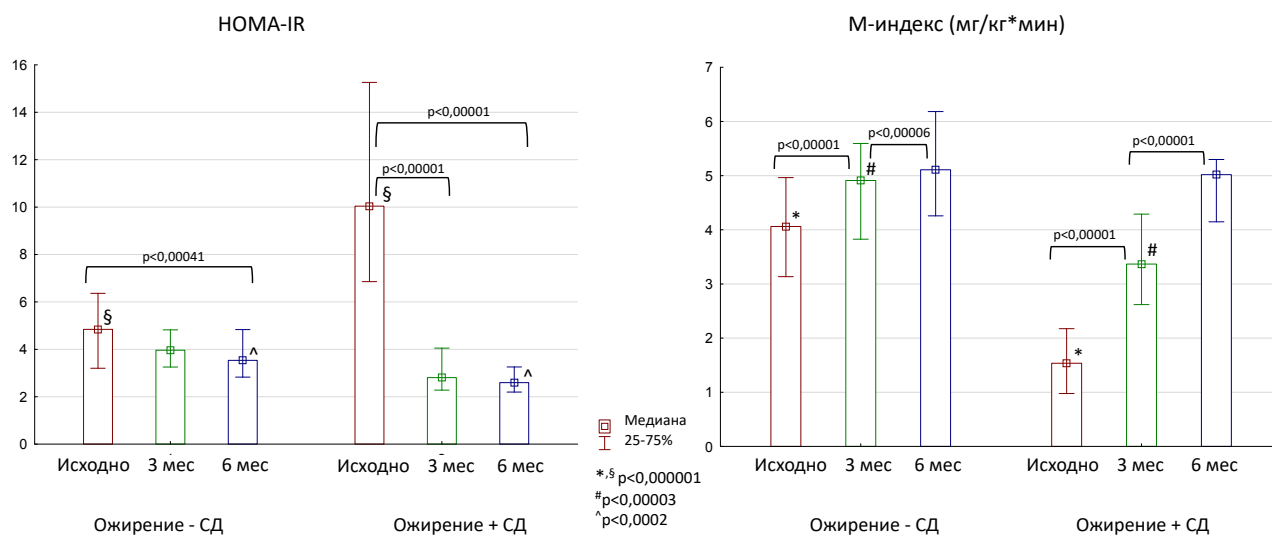


Рисунок 5. Динамика антропометрических и биохимических показателей после бариатрических вмешательств в группах пациентов с ожирением с и без СД 2; А- динамика массы тела и ИМТ, Б – динамика депо жировой ткани, В – динамика гликемии, Г – динамика липидного спектра
Примечание (здесь и далее в рисунках раздела): межгрупповые различия оценивались с помощью критерия Манна-Уитни (обозначены спецсимволами), внутригрупповые различия в динамике - с помощью критерия Вилкоксона (обозначены фигурной скобкой с указанием уровня значимости)

У пациентов обеих групп отмечалось значимое снижение ИР после проведения бариатрического вмешательства без значимого изменения секреции инсулина (рис. 6 А-Б).

А



Б

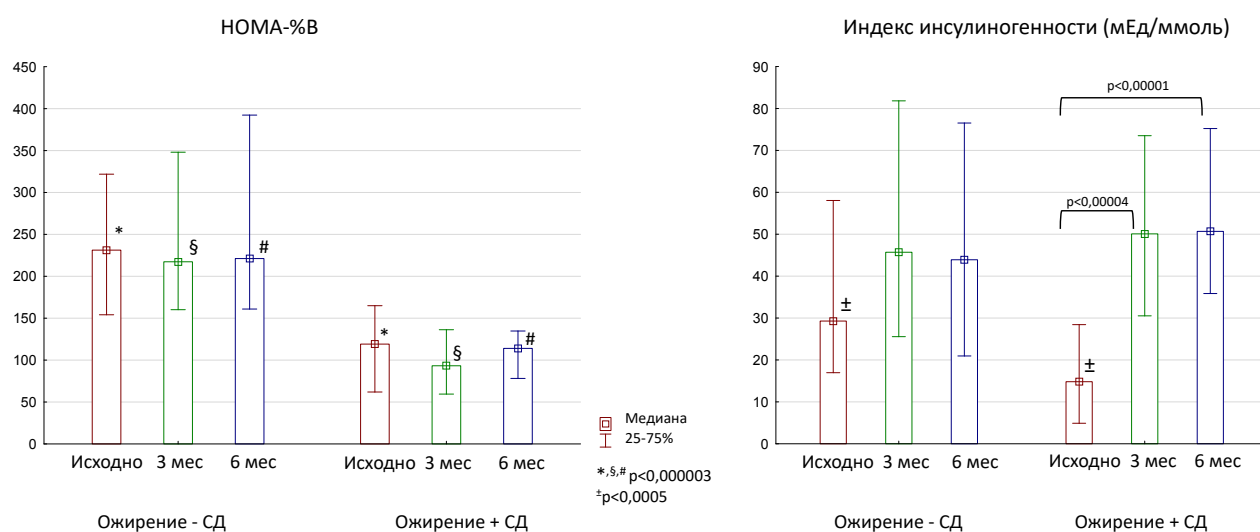


Рисунок 6. А – Динамика показателей ИР после бариатрической операции в группах пациентов с и без СД 2, Б - динамика показателей функции β-клетки после бариатрической операции в группах пациентов с и без СД 2

В обеих группах снижалась выраженность постпрандиальной гиперглюкагонемии, однако к окончанию наблюдения уровень глюкагона в группе пациентов с исходным СД 2 оставался значимо более высоким (рис. 7).

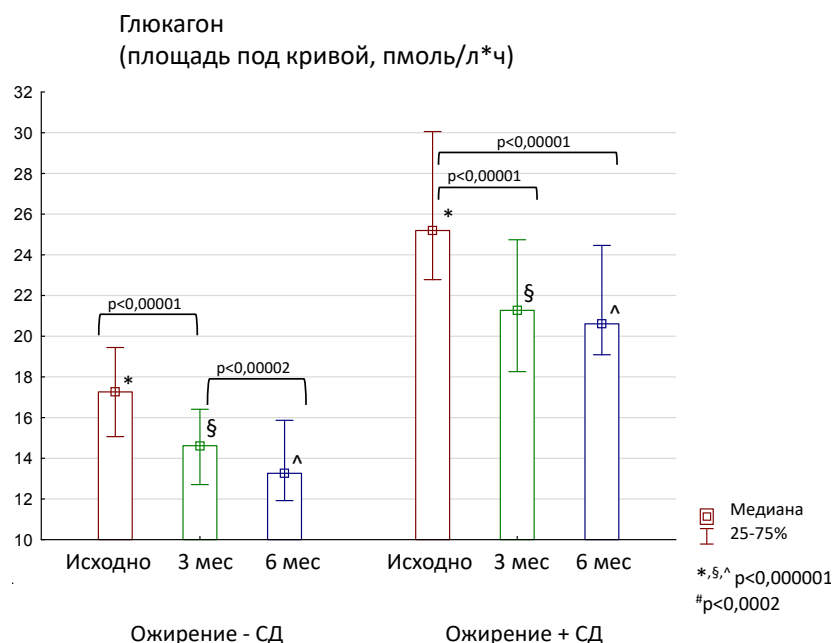


Рисунок 7. Динамика секреции глюкагона (площадь под кривой) после бариатрической операции в группах пациентов с и без СД 2

Секреция двух основных инкретиновых гормонов после бариатрических вмешательств изменялась разнонаправленно: уровень ГПП-1 рос, уровень ГИП снижался (рис. 8).

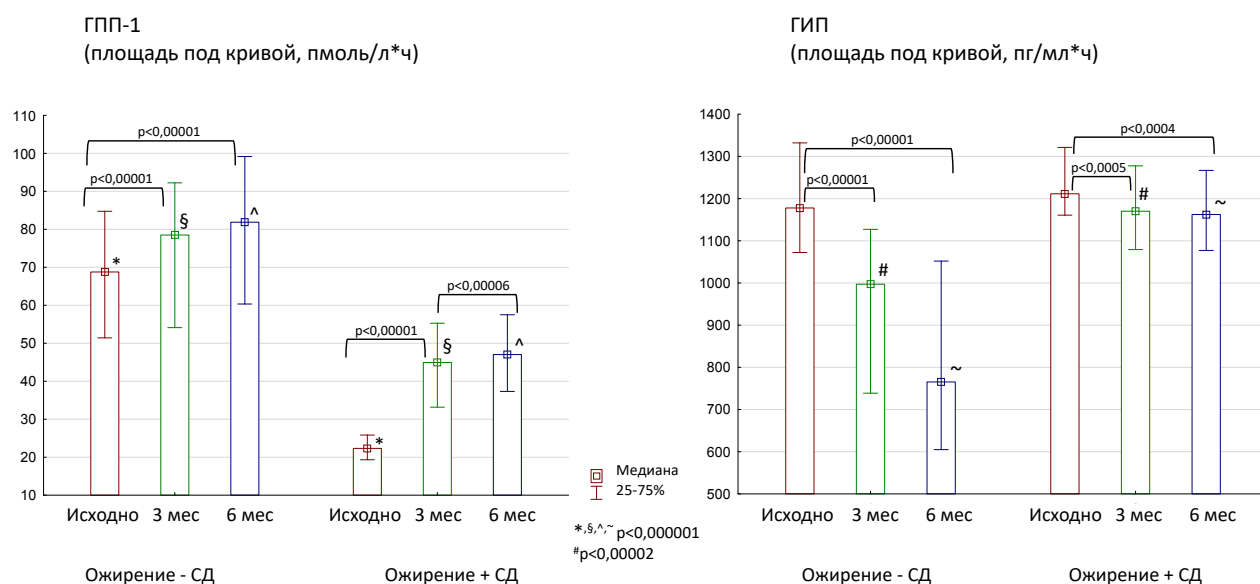


Рисунок 8. Динамика секреции ГПП-1 и ГИП (площадь под кривой) после бариатрической операции в группах пациентов с ожирением с и без СД 2

Исследования на культуре клеток жировой ткани

С целью поиска различий между адипоцитарными факторами в группах пациентов с СД 2 и без нарушений углеводного обмена мы исследовали следующие параметры:

- воспалительные свойства подкожной и висцеральной жировой ткани
- способность МСК жировой ткани к делению и дифференцировке
- транскриптом жировой ткани

Для оценки уровня воспаления в составе жировой ткани проводили оценку инфильтрации жировой ткани макрофагами (CD68 – поверхностный маркер макрофагов) и вычисляли долю CD68-позитивных клеток в составе жировой ткани. В висцеральной жировой ткани пациенты с СД 2 имели в 2.5 раза более высокую инфильтрацию CD68-позитивными клетками по сравнению с пациентами без нарушений углеводного обмена ($17.98 \pm 1.91\%$ CD68-позитивных клеток в поле зрения против $7.18 \pm 1.28\%$ CD68-позитивных клеток в поле зрения соответственно, $p < 0.01$). Схожая картина наблюдалась в подкожной жировой ткани ($22.12 \pm 2.03\%$ CD68-позитивных клеток в поле зрения у пациентов с СД 2 против $10.8 \pm 1.94\%$ CD68-позитивных клеток в поле зрения у лиц без СД 2, $p < 0.01$). Полученные результаты свидетельствуют о повышенном уровне воспаления в составе как подкожной, так и висцеральной жировых тканей пациентов с СД 2.

Макрофаги могут менять свой фенотип в зависимости от микроокружения и приобретать склонность к провоспалительному (M1) или противовоспалительному (M2) фенотипам. В связи с этим следующим этапом был иммунофенотипический анализ макрофагов жировой ткани пациентов с ожирением и наличием/отсутствием СД 2.

В подкожной и висцеральной жировых тканях как у пациентов с СД 2, так и у пациентов без нарушений углеводного обмена, мы обнаружили, что около 60-80% общей популяции макрофагов жировой ткани имеют провоспалительный M1-подобный фенотип (рис. 9, M1).

В подкожной и висцеральной жировых тканях пациентов без нарушений углеводного обмена почти все макрофаги имели M2-подобный фенотип (CD206/CD68 клетки): $97.31 \pm 1.38\%$ в подкожном депо и $88.74 \pm 2.04\%$ в висцеральном. Однако, в висцеральной жировой ткани пациентов с СД 2 было статистически значимо меньше ($p < 0.01$) противовоспалительных M2-подобных макрофагов ($72.74 \pm 4.65\%$) при этом содержание их в подкожной ткани сопоставимо с группой без СД 2 ($98.84 \pm 0.33\%$) (рис. 9, M2).

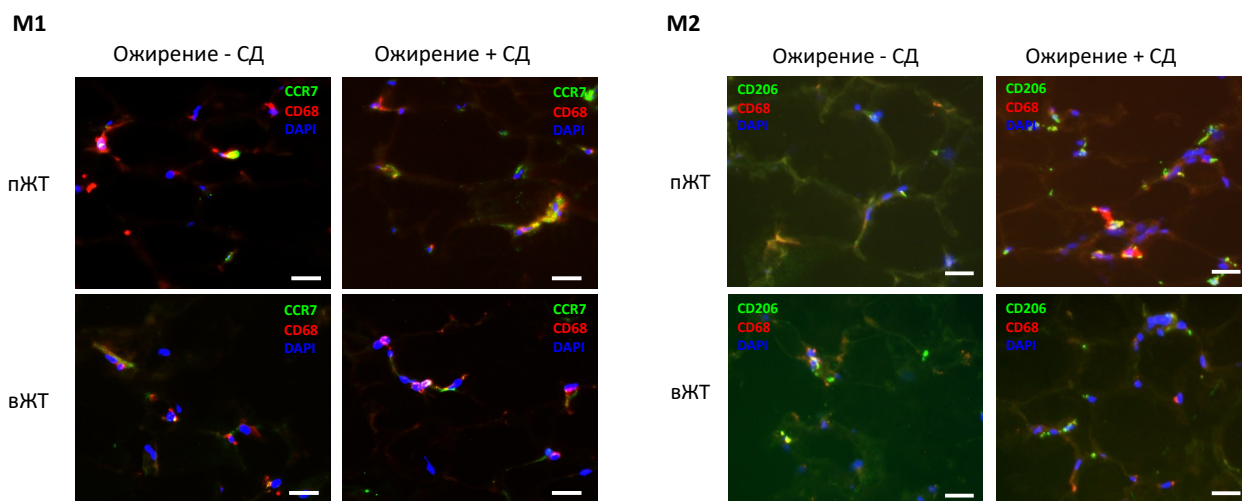


Рисунок 9. Определение M1- и M2-подобных макрофагов на срезах подкожной и висцеральной жировых тканей (панель репрезентативных фотографий срезов, окрашенных антителами против CD68, CCR7, DAPI (M1) и CD68, CD206, DAPI (M2)).

Примечание: *пЖТ* – подкожная жировая ткань, *вЖТ* – висцеральная жировая ткань. Масштабный отрезок 40 мкм.

Для понимания механизмов развития воспаления жировой ткани у пациентов с ожирением и СД 2 был проведен анализ среднего размера адипоцита, который свидетельствует о степени гипертрофии жировой ткани. Адипоциты как в составе подкожной, так и в составе висцеральной жировых тканей оказались гипертрофированы относительно адипоцитов в составе жировой ткани пациентов с нормогликемией (рис. 10).

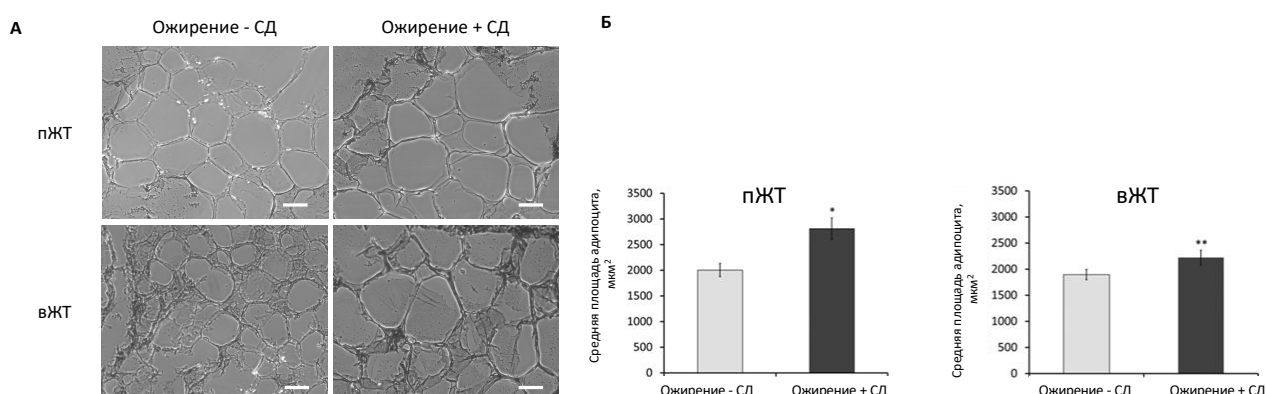


Рисунок 10. Средняя площадь адипоцита подкожной и висцеральной жировых тканей пациентов с и без СД 2. А – репрезентативная фотография адипоцитов, Б – гистограмма средней площади адипоцита подкожной и висцеральной жировых тканей.

Примечание: *пЖТ* – подкожная жировая ткань, *вЖТ* – висцеральная жировая ткань. Данные на гистограммах представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего, критерий Манна-Уитни. * $p < 0.01$, ** $0.01 < p < 0.05$. Масштабный отрезок 20 мкм.

Мы провели исследование пролиферативного и адипогенного потенциалов МСК жировой ткани пациентов с ожирением и наличием или отсутствием СД 2. МСК подкожной и висцеральной жировой ткани пациентов с СД 2 имели более низкую способность к пролиферации по сравнению с жировой тканью лиц без нарушений углеводного обмена (рис. 11).

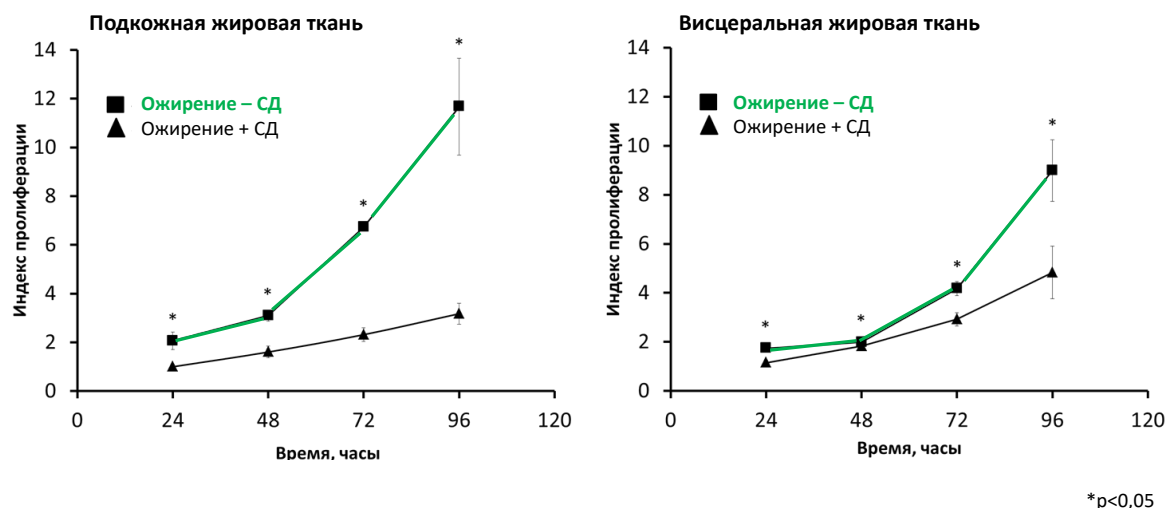


Рисунок 11. Пролиферативный потенциал МСК жировой ткани пациентов с и без СД 2.

Для оценки способности МСК жировой ткани пациентов к адипогенной дифференцировке был проведен количественный анализ экспрессии генов-маркеров (*GLUT4*, *PPAR γ* , *FABP4*) (рис. 12).

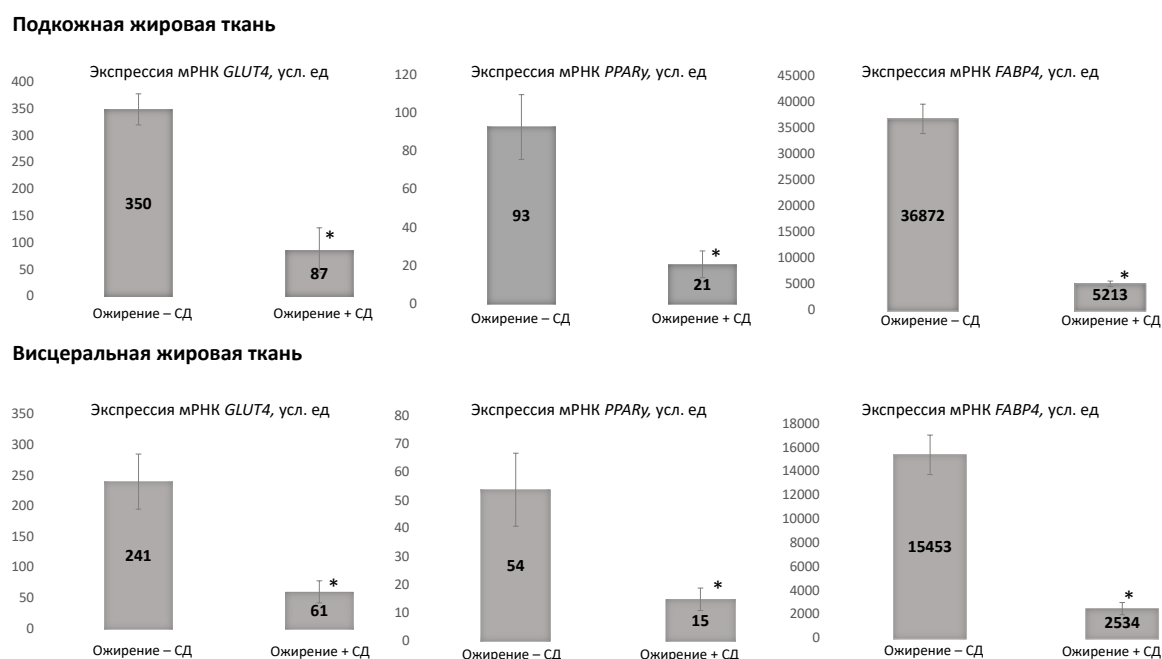


Рисунок 12. Экспрессия генов-маркеров адипогенеза на 21 день адипогенной дифференцировки. Примечание: данные представлены в формате среднее значение \pm стандартная ошибка среднего, *p<0.01, критерий Манна-Уитни.

Для оценки транскриптома (совокупности всех молекул РНК, синтезируемых группой клеток, включая мРНК и некодирующие РНК) было проведено полногеномное секвенирование 70 образцов подкожной жировой ткани (по 35 образцов от пациентов с и без СД 2).

Были обнаружены 7 дифференциально экспрессирующихся микроРНК с уровнем значимости $<0,05$ после поправки на множественность сравнений. Пять из дифференциально экспрессирующихся микроРНК имели повышенный уровень экспрессии в группе пациентов СД 2 с ожирением (miR-204-5p, miR125b-5p, miR-125a-5p, miR320a, miR-99b), две микроРНК имели повышенный уровень экспрессии в группе пациентов без нарушений углеводного обмена (miR-23b-3p и miR197-3p.) Эти семь микроРНК нацелены на две группы генов: матричные металлопротеиназы и гены сигнального пути TGF β .

Результаты экспериментального исследования

В эксперимент было включено 20 животных, которые после 2х-недельного карантина были разделены на группы нормокалорийного питания (контроль) и высококалорийного питания.

За 14 недель эксперимента животные обеих групп значительно прибавили массу тела по сравнению с исходным показателем (рис. 13).

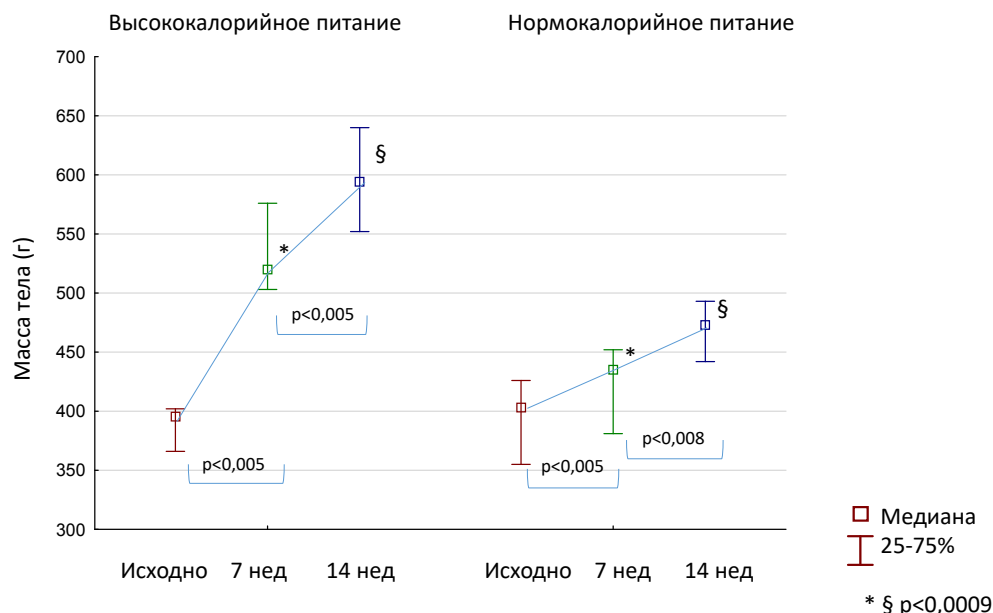


Рисунок 13. Динамика массы тела животных в группах нормо- и высококалорийного питания
 Примечание (здесь и далее в рисунках раздела): межгрупповые различия оценивались с помощью критерия Манна-Уитни (обозначены спецсимволами), внутригрупповые различия в динамике - с помощью критерия Вилкоксона (обозначены фигурной скобкой с указанием уровня значимости)

Начиная с 7-й недели эксперимента у животных группы высококалорийного питания прирост гликемии в ходе ГТТ начал значительно опережать этот показатель в контрольной группе (рис. 14).

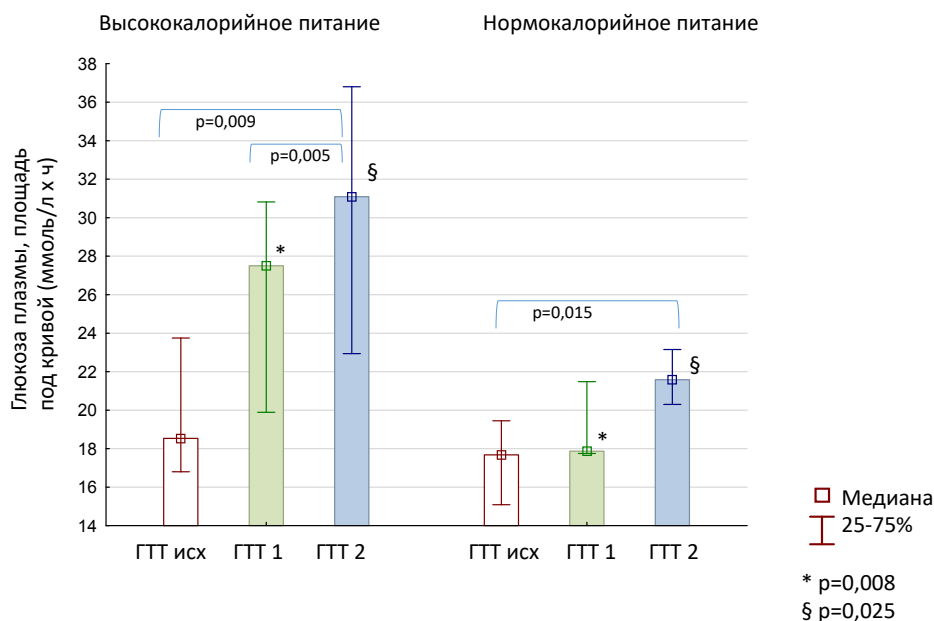


Рисунок 14. Динамика гликемии (площадь под кривой) в ходе ГТТ в группах высоко- и нормокалорийного (контроль) питания

Животные обеих групп достигали равнозначного прироста секреции инсулина к окончанию эксперимента, однако темпы нарастания концентрации инсулина в ответ на углеводную нагрузку были различными (рис. 15).

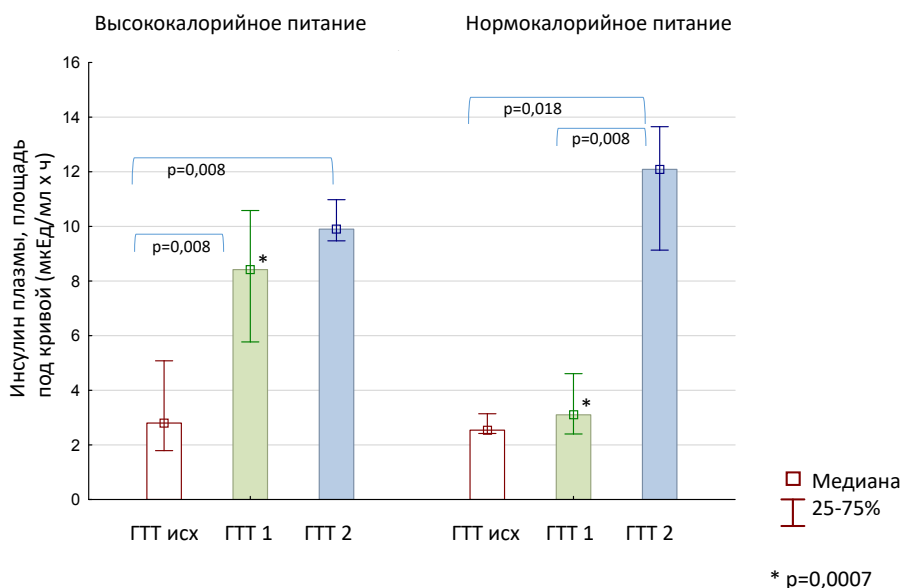


Рисунок 15. Различия в динамике секреции инсулина в ходе ГТТ в группе нормо- и высококалорийного питания через 7 недель (ГТТ 1) и 14 недель (ГТТ 2) от начала эксперимента

У животных контрольной группы нарастание ИР происходило постепенно, статистически значимый прирост ИР в этой группе произошел в интервале от 7-й до 14-й недели наблюдения (рис. 16). В группе животных, получавших высококалорийное питание, увеличение ИР возникло уже на первом этапе эксперимента (к 7-й неделе) и далее ее величина осталась неизменной.

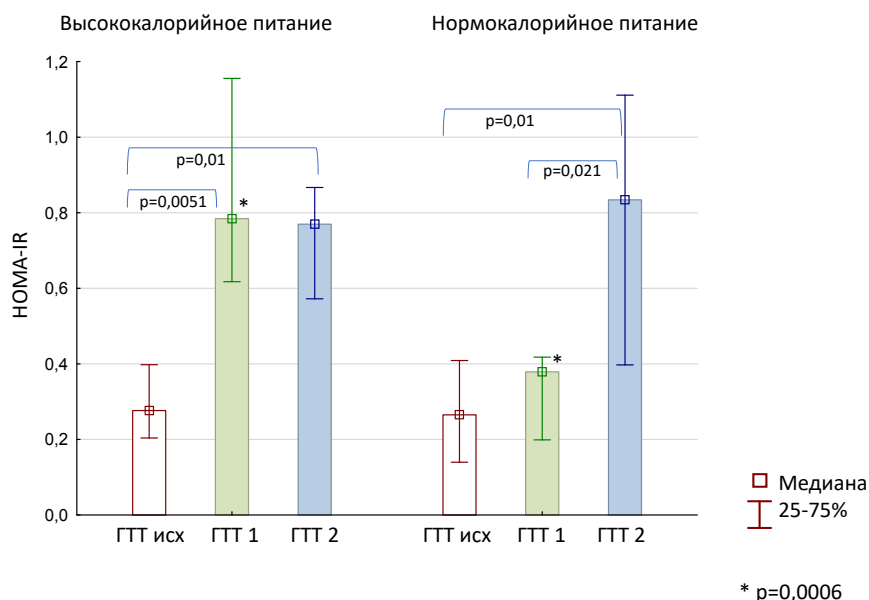


Рисунок 16. Различия в динамике ИР в группе нормо- и высококалорийного питания через 7 недель (ГТТ 1) и 14 недель (ГТТ 2) от начала эксперимента

Ритм выработки глюкагона изменялся в обеих группах в ходе исследования – к 14-й неделе наблюдения исчезало подавление секреции глюкагона в ответ на углеводную нагрузку (рис. 17).

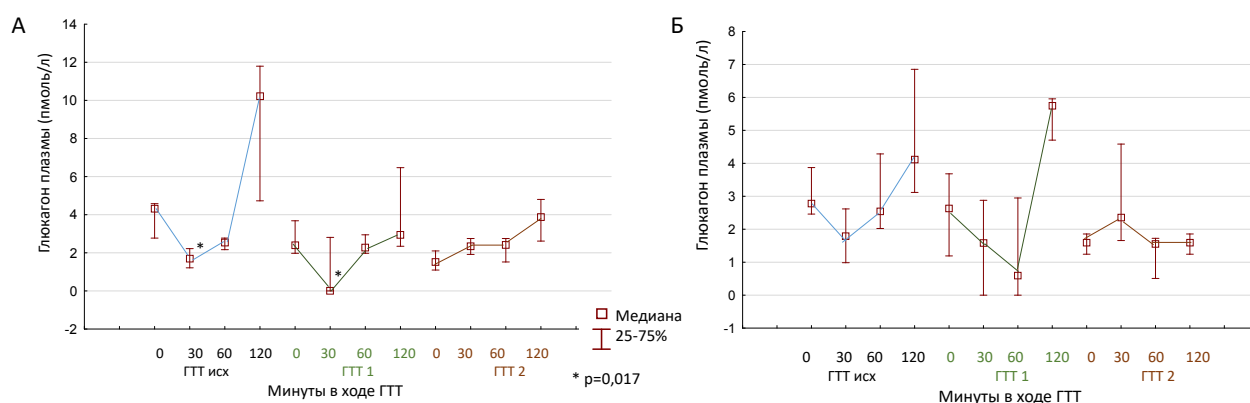


Рисунок 17. Ритм секреции глюкагона в ходе ГТТ в группах нормо- (А) и высококалорийного (Б) питания

В обеих группах секреция ГПП-1 статистически значимо снижалась к 14-й неделе наблюдения (рис. 18).

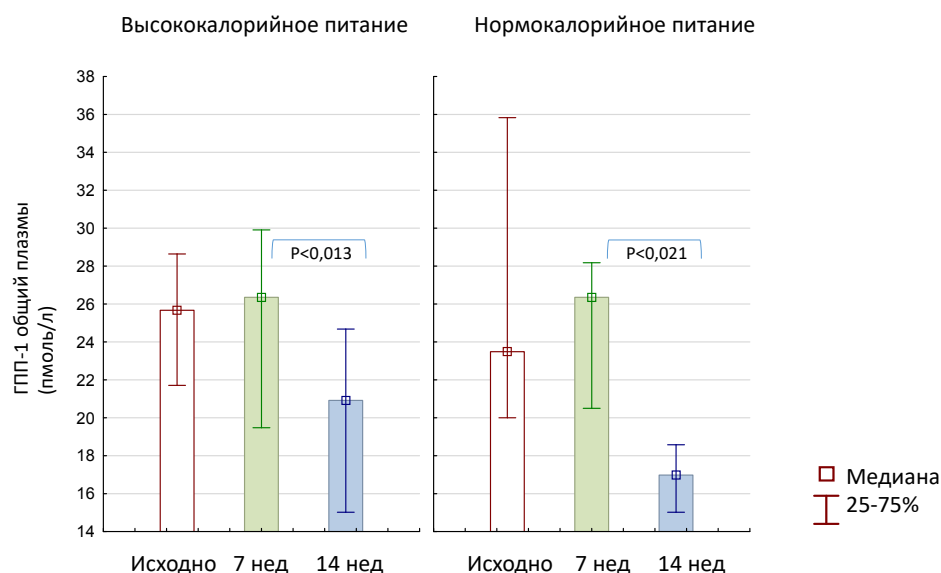


Рисунок 18. Различия в динамике секреции ГПП-1 в группе нормо- и высококалорийного питания через 7 недель (ГТТ 1) и 14 недель (ГТТ 2) от начала эксперимента

Морфологическое и иммуногистохимическое исследование

При оценке площади адипоцитов было выявлено значимое увеличение размеров клеток у животных, развивших ожирение на фоне высококалорийного питания, по сравнению с контрольной группой как в составе подкожной жировой ткани, так и в составе висцеральной (рис. 19 А, Б).

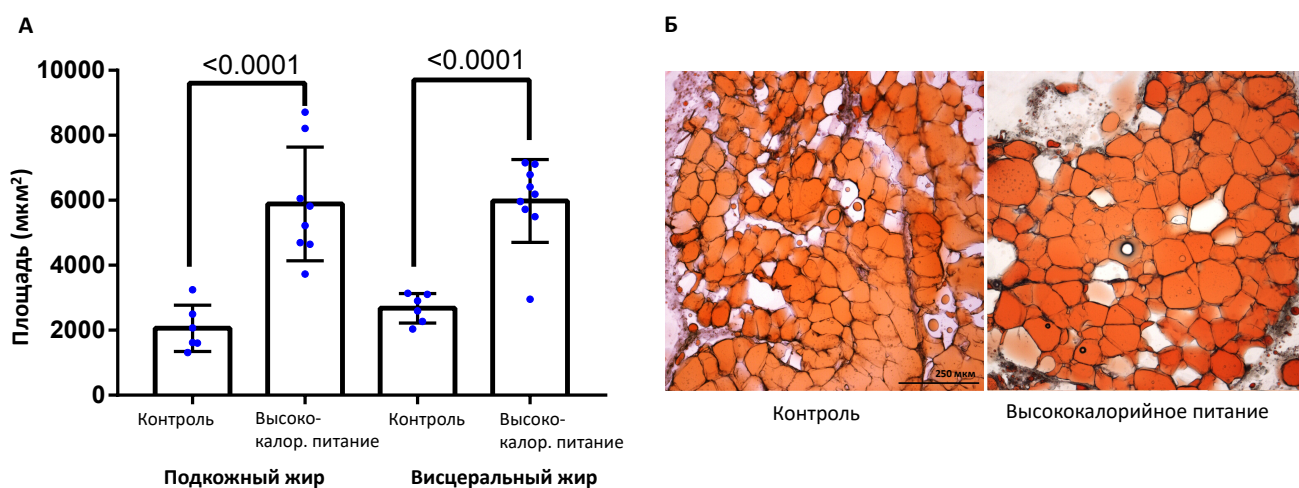


Рисунок 19. Морфология адипоцитов подкожного и висцерального депо жировой ткани в группах нормо- и высококалорийного питания. А- гистограмма площади адипоцитов; Б – гистологические препараты висцеральной жировой ткани в группах нормо- и высококалорийного питания. 10-кратное увеличение

На фоне разных типов питания животных оценивалась жировая инфильтрация печени и поджелудочной железы. Были обнаружено значимое преобладание доли эктопической жировой ткани в данных органах у животных на фоне высококалорийного питания по сравнению с контрольной группой (рис. 20 А-Г).

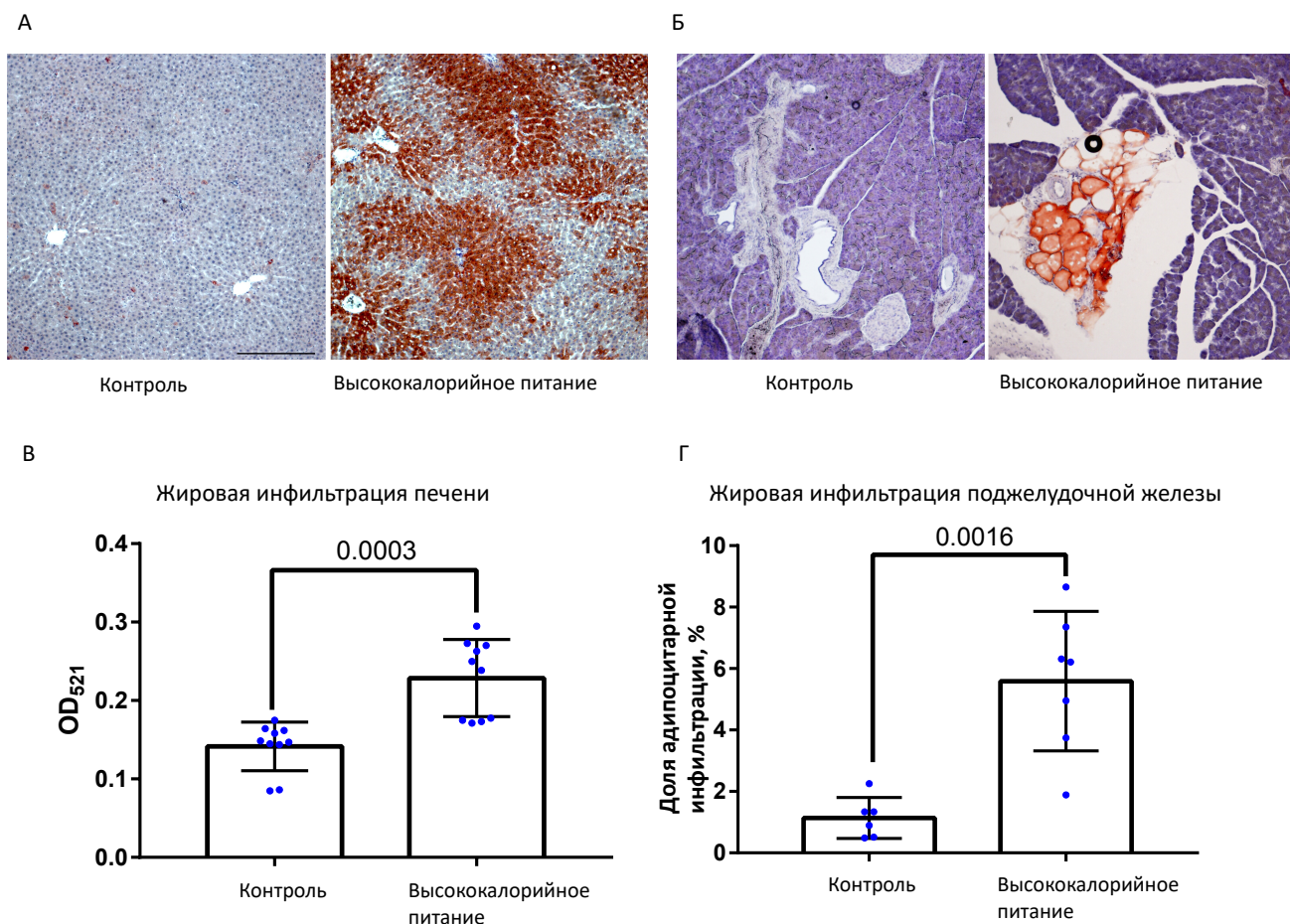


Рисунок 20. Эктопическое отложение жировой ткани. А, В- жировая инфильтрация печени в группах нормо- и высококалорийного питания (А- окраска масляным красным, В- фотометрическая оценка плотности окрашивания); Б, Г – жировая инфильтрация поджелудочной железы в группах нормо- и высококалорийного питания (Б- окраска масляным красным, Г- доля адипоцитов (%) к площади среза). 10-кратное увеличение

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ВЫВОДЫ

1. Нормогликемия может сохраняться у пациентов с длительным (> 30 лет) анамнезом морбидного ожирения.
2. Нарушения углеводного обмена ассоциируются с локализацией жировой ткани в висцеральном или эктопическом депо, а не с общим объемом жировой ткани.
3. Лица без СД 2 в сравнении с пациентами с СД 2 при равной степени ожирения характеризуются «защитным» гормонально-метаболическим профилем, достаточным для поддержания нормогликемии: более низкой инсулинорезистентностью, сохранной базальной и стимулированной секрецией инсулина и ГПП-1.
4. При ожирении у лиц как с СД 2, так и без нарушений углеводного обмена отсутствует постпрандиальное подавление глюкагона, что, вероятно, является самостоятельной характеристикой избыточного количества жировой ткани вне зависимости от наличия СД 2.
5. Хронология гормонально-метаболических изменений при нарастании массы жировой ткани (на экспериментальной модели ожирения у крыс) характеризуется:
 - первичным снижением чувствительности к инсулину и развитием компенсаторной гиперинсулинемии
 - вторичным нарушением подавления секреции глюкагона в ответ на углеводную нагрузку
 - вторичным изменением продукции гормонов инкретинового ряда (снижением ГПП-1, повышением ГИП).
6. Обратная хронология патофизиологических изменений при снижении массы тела у лиц с морбидным ожирением сопровождается синхронным улучшением чувствительности к инсулину, восстановлением стимулированной секреции инсулина и ГПП-1, а также уменьшением постпрандиальной гиперглюкагонемии.
7. Снижение массы тела на 25% у больных с СД 2 через 6 месяцев после хирургического лечения приводит к нормализации углеводного обмена (по ГПН, ППГ и НвA1c), но не сопровождается полным восстановлением баланса секреции инсулина, глюкагона и инкретиновых гормонов. Следовательно, уменьшение объема жировой ткани имеет более важное значение в достижении нормогликемии, чем восстановление гормонального профиля.
8. Жировая ткань пациентов с ожирением с СД 2 и без СД 2 значительно отличается по морфологии и иммунофенотипу: при СД 2 адипоциты гипертрофированы, имеют сниженный пролиферативный потенциал, а жировая ткань характеризуется

субклиническим воспалением, более выраженным в висцеральном депо, тогда как у лиц без СД 2 адипоциты имеют меньший размер и менее выраженную инфильтрацию жировой ткани макрофагами.

9. В жировой ткани пациентов с СД 2 по сравнению с лицами без СД 2 наблюдаются изменения экспрессии микроРНК, ассоциированных с регуляцией адипогенеза и фиброза. В совокупности с выявленными в жировой ткани лиц с СД 2 нарушениями пролиферативного потенциала и способности к адипогенезу можно предположить, что данные изменения являются причиной нарушения формирования новых жировых депо и развития нечувствительности к инсулину.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В научных исследованиях, посвященных изучению влияния жировой ткани на углеводный обмен, целесообразно проводить комплексную оценку функциональной активности адипоцитов: определение гормональной секреции, морфологии и иммунофенотипа адипоцитов, транскриптома жировой ткани.

2. Пациентам с ожирением следует активно рекомендовать снижение массы вне зависимости от наличия нарушений углеводного обмена, так как уменьшение выраженности ожирения приводит к дополнительному улучшению гликемии и липидного спектра, а также снижению выраженности висцерального ожирения.

3. Пациентам с СД 2, достигшим нормализации углеводного обмена после снижения массы тела на фоне хирургического лечения ожирения, требуется длительный контроль состояния углеводного обмена, так как достижение нормогликемии не сопровождается полным восстановлением секреции гормонов поджелудочной железы и инкретинов.

4. У пациентов с ожирением гипертриглицеридемию следует интерпретировать как дополнительный маркер высокой вероятности развития нарушений углеводного обмена.

Список работ, опубликованных автором по теме диссертации

В изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для изложения основных научных результатов диссертации

1. **Шестакова Е. А.**, Ильин А. В., Шестакова М. В., Дедов И. И. Секретция гормонов инкретинового ряда у лиц с факторами риска развития сахарного диабета 2-го типа. Терапевтический архив. 2014;86(10):10-14.
2. Лохов П. Г., Трифонова О. П., Маслов Д. Л., Балашова Е. Е., Арчаков А. И., **Шестакова Е. А.**, Шестакова М. В., Дедов И. И. Диагностика нарушенной толерантности к глюкозе прямым масс-спектрометрическим анализом метаболитов в плазме крови. Проблемы эндокринологии. 2014;60(3):4-9. <https://doi.org/10.14341/probl20146034-9>
3. Lokhov PG, Trifonova OP, Maslov DL, Balashova EE, Archakov AI, **Shestakova EA**, Shestakova MV, Dedov II. Diagnosing impaired glucose tolerance using direct infusion mass spectrometry of blood plasma. PLoS One. 2014 Sep 9;9(9):e105343. doi: 10.1371/journal.pone.0105343. PMID: 25202985; PMCID: PMC4159123.
4. **Шестакова Е.А.**, Ильин А.В., Шестакова М.В., Дедов И.И. Глюкозозависимый инсулиноотропный полипептид – новое звено в развитии ожирения. Ожирение и метаболизм. 2015;12(1):16-19. <https://doi.org/10.14341/omet2015116-19>
5. Мачехина Л.В., **Шестакова Е.А.**, Белая Ж.Е., Шестакова М.В. Углеводный обмен у пациентов с болезнью Иценко-Кушинга: взгляд на инкретиновую систему. Проблемы Эндокринологии. 2016;62(5):67-68. <https://doi.org/10.14341/probl201662567-68>
6. Мачехина Л.В., **Шестакова Е.А.**, Белая Ж.Е., Никанкина Л.В., Астафьева Л.И., Шестакова М.В. Глюкагоноподобный пептид-2 и глюкагон у пациентов с акромегалией и болезнью Иценко—Кушинга: особенности секреции и влияние на метаболизм глюкозы // Проблемы эндокринологии. — 2017. — Т. 63. — №5. — С. 299—306. doi: 10.14341/probl2017635299-306
7. Галстян Г.Р., **Шестакова Е.А.**, Скляник И.А. Ожирение и сахарный диабет 2 типа: поиск компромиссного терапевтического решения // Сахарный диабет. — 2017. — Т.20. — №4. — С. 270-278. doi: 10.14341/DM8726
8. **Е.А. Шестакова**, И.А. Скляник, А.С. Паневина, М.В. Шестакова. С чем связано отсутствие нарушений углеводного обмена у лиц с длительным анамнезом ожирения — с низкой инсулинорезистентностью или сохранной секрецией инсулина? Вестник РАМН. 2018; 73(5): 344-353
9. **Шестакова Е.А.**, Ставровская А.В., Гущина А.С., Ямщикова Н.Г., Ольшанский А.С. Оценка когнитивных функций и метаболических параметров зрелых крыс-самцов линии Sprague-Dawley на фоне

высококалорийной и гипокалорийной диеты. Ожирение и метаболизм. 2018;15(4):65-73. <https://doi.org/10.14341/omet10022>

10. Stafeev I, Podkuychenko N, Michurina S, Sklyanik I, Panevina A, **Shestakova E**, et al. Low proliferative potential of adipose-derived stromal cells associates with hypertrophy and inflammation in subcutaneous and omental adipose tissue of patients with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications*. 2019 Feb;33(2):148-159. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2018.10.011. Epub 2018 Nov 4. PMID: 30482492.
11. Скляник И.А., **Шестакова Е.А.**, Юрасов А.В. и др. Возможность достижения нормогликемии у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и ожирением: сравнение медикаментозного и хирургического методов лечения. *Терапевтический архив*. 2019; 91 (10): 34–38. DOI: 10.26442/00403660.2019.10.000375
12. Brovkina O, Nikitin A, Khodyrev D, **Shestakova E**, et al. Role of MicroRNAs in the Regulation of Subcutaneous White Adipose Tissue in Individuals With Obesity and Without Type 2 Diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019 Dec 5; 10: 840. doi: 10.3389/fendo.2019.00840. PMID: 31866945; PMCID: PMC6906587.
13. **Шестакова Е.А.**, Скляник И.А., Паневина А.С. и др. Ожирение без сахарного диабета: особенности гормональной регуляции углеводного обмена. *Терапевтический архив*. 2020; 92 (10): 15–22. DOI: 10.26442/00403660.2020.10.000750
14. **Шестакова Е.А.**, Яшков Ю.И., Реброва О.Ю., Кац М.В., Самсонова М.Д., Дедов И.И. Сравнение анамнестических характеристик, особенностей образа жизни и сопутствующих заболеваний у пациентов с ожирением при наличии и отсутствии сахарного диабета 2 типа. *Ожирение и метаболизм*. 2020;17(4):332-339. <https://doi.org/10.14341/omet12701>

В других изданиях:

1. **Е.А. Shestakova**, A.V. Ilyin, M.V. Shestakova, I.I. Dedov. High fasting glucagon-like peptide 2 levels potentiate greater glucagon response during OGTT in patients with type 2 diabetes risk factors and newly-diagnosed type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2014: 57, S251
2. Степанова А.В., Кочегура Т.Н., Ефименко А.Ю., **Шестакова Е.А.**, Скляник И.А., Кулебякин К.Ю. Изменение адипогенного потенциала мезенхимных стромальных клеток жировой ткани человека при инсулинорезистентности. *Гены & Клетки*. 2017; 12(3): 140-141
3. L. Macheikhina, **E. Shestakova**, L. Astafieva, M. Shestakova. Incretin hormones in pathogenesis of secondary hyperglycaemia in patients with Cushing's disease

- and acromegaly. *Endocrine Abstracts*. 2018; 56 :GP84 DOI: 10.1530/endoabs.56.GP84
4. L Machekhina, **E Shestakova**, ZH Belaya, L Astafieva, L Nikankina, M Shestakova. Glucose intolerance and incretin hormones in patients with Cushing's disease and acromegaly. *Diabetic Medicine*. 2018; 35(S1): 69
 5. Sklyanik I., **Shestakova E.**, Panevina A., Shestakova M. Glycemia normalization in patients with obesity and type 2 diabetes mellitus using technologies providing maximum incretin effect (biliopancreatic diversion vs liraglutide 3.0 mg). *Diabetes Technology & Therapeutics*. 2019, 21 (S1) A144
 6. Sklyanik I., **Shestakova E.**, Panevina A., et al. Diabetes remission after biliopancreatic diversion is more likely in patients with traits of "metabolic health". *Obesity Facts*. 2019; 12 (1): 157
 7. I. Sklyanik, **E. Shestakova**, A. Panevina, L. Nikankina, M. Shestakova. Role of proglucagon family hormones in augmentation of first phase insulin secretion after gastric bypass and sleeve gastrectomy. *Diabetologia*. 2019; 62 (S1): 244-245
 8. Stafeev I., Michurina S., Podkuychenko N., Sklyanik I., Panevina A., **Shestakova E.**, et al. New hypothesis of the insulin resistance development: role of adipose-derived stem cell proliferation and adipogenesis. *European Heart Journal*. 2019; 40(1): ehz745.0811
 9. I. Sklyanik, **E. Shestakova**, I. Stafeev, et al. Dynamics of insulin resistance assessed by two methods (HOMA and hyperinsulinaemic euglycaemic clamp) during 12 months after bariatric surgery in type 2 diabetes patients. *Diabetologia*. 2020; 63 (Suppl 1), S220
 10. I. Sklyanik, **E. Shestakova**, Iu. Stafeev, S. et al. Insulin Resistance cut-off for High Probability of Blood Glucose Normalization in T2DM Patients with Obesity after Bariatric Surgery. *Diabetes*. 2020;69 (Supplement 1)
 11. **Shestakova E.**, Sklyanik I., Panevina A., et al. GLP-1 enhancement anticipates insulin resistance reduction during diabetes remission after bariatric surgery. *Obesity Reviews*. 2020; 21(Suppl 1)
 12. Sklyanik I., **Shestakova E.**, Stafeev I., et al. Lipid normalization is independent benefit of bariatric surgery regardless of glycaemia normalization. *Obesity Facts*. 2021 Vol. 14 (S1): 124 <https://doi.org/10.1159/000515911>
 13. **Shestakova EA**, Stavrovskaya AV, Gushchina AS, Yamshikova NG, Olshansky AS, Malysheva, NM, Illarioshkin SN, Dedov II. Rapid insulin resistance escalation rather than its' absolute value is the cause of glucose intolerance in male Sprague Dawley rats. *Obesity Facts*. 2021 Vol. 14 (S1): 72. <https://doi.org/10.1159/000515911>

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ГИП - глюкозозависимый инсулиотропный полипептид
ГПН – гликемия плазмы натощак
ГПП-1 - глюкагоноподобный пептид 1 типа
ГТТ - глюкозотолерантный тест
ИИ – индекс инсулиногенности
ИМТ – индекс массы тела
ИР – инсулинорезистентность
ЛПВП - липопротеиды высокой плотности
ЛПНП - липопротеиды низкой плотности
ММП - матриксные металлопротеиназы
ММТ – тест со смешанной пищей
МСК – мезенхимальная стволовая клетка
ОБ – окружность бедер
ОТ – окружность талии
ОТ/ОБ – отношение окружности талии к окружности бедер
ПГТТ – пероральный глюкозотолерантный тест
ППГ – постпрандиальная гликемия
СД 2 – сахарный диабет 2 типа
СКФ – скорость клубочковой фильтрации
ССП – сахароснижающие препараты
HbA1c – гликированный гемоглобин
НОМА-%В – индекс базальной секреции инсулина
НОМА-IR – индекс инсулинорезистентности