

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ЭНДОКРИНОЛОГИИ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Шестакова Екатерина Алексеевна

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

3.1.19 – эндокринология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Научный консультант:

академик РАН,

доктор медицинских наук,

профессор Иван Иванович Дедов

Москва 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
Актуальность темы исследования	5
Цель исследования	6
Задачи исследования	6
Научная новизна исследования	7
Теоретическая и практическая значимость исследования	8
Методология и методы исследования	9
Положения, выносимые на защиту	9
Апробация диссертационной работы	10
Публикации	11
Структура и объем диссертации	11
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1. Ожирение и риск развития СД 2	13
2. Факторы, способствующие развитию СД 2 у лиц с ожирением..	15
2.1 Роль образа жизни в развитии СД 2 у лиц с ожирением	15
2.2 Различия в распределении жировой ткани как фактор риска СД 2	16
2.3 Гормональный профиль как фактор риска СД 2 при ожирении	18
2.4 Гормоны желудочно-кишечного тракта в развитии ожирения и СД 2	21
2.5 Адипокины в развитии ожирения и СД 2	26
2.6 Генетические причины ожирения и ассоциированных нарушений углеводного обмена	28
3. Заключение по обзору литературы	31
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	32

Общий дизайн исследования	32
Этап 1. Ретроспективное исследование	34
Этап 2. Одномоментное исследование	37
Этап 3. Проспективное исследование	42
Исследование на культуре клеток жировой ткани	48
Этап 4. Экспериментальное исследование	54
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	60
3.1 Результаты ретроспективного исследования	60
3.1.1 Анализ влияния анамнестических, антропометрических показателей, а также характеристик образа жизни на риск развития СД 2 при ожирении	60
3.1.2 Анализ влияния сопутствующих заболеваний на риск развития СД 2 при ожирении	68
3.1.3 Резюме основного результата 1 этапа исследования	73
3.2 Результаты одномоментного исследования	75
3.2.1 Анализ влияния возраста на исследуемые параметры ...	81
3.2.2 Резюме основного результата 2 этапа исследования	82
3.3 Результаты проспективного исследования	83
3.3.1 Исходные характеристики пациентов	83
3.3.2 Изменение клинических и лабораторных параметров в период наблюдения	86
3.3.3 Изменение секреции гормонов поджелудочной железы в период наблюдения	98
3.3.4 Изменение секреции гормонов желудочно-кишечного тракта (инкретинов) в период наблюдения	110
3.3.5 Оценка секреции гормонов желудочно-кишечного тракта в зависимости от типа оперативного вмешательства	122
3.3.6 Исследования на культуре клеток жировой ткани	125

3.3.6.1	Анализ воспалительных свойств подкожной и висцеральной жировой ткани	126
3.3.6.2	Исследование способности МСК жировой ткани к делению и дифференцировке	132
3.3.6.3	Исследование транскриптома жировой ткани	133
3.3.7	Резюме основного результата 3 этапа исследования	140
3.4	Результаты экспериментального исследования	142
3.4.1	Динамика веса и гликемии у животных	142
3.4.2	Динамика секреции инсулина у животных	147
3.4.3	Динамика инсулинорезистентности, показателей функции бета-клетки у животных	151
3.4.4	Динамика секреции глюкагона у животных	156
3.4.5	Динамика базальной секреции инкретиновых гормонов у животных	161
3.4.6	Морфологическое и иммуногистохимическое исследование	163
3.5	Резюме основного результата 4 этапа исследования	165
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ		167
4.1	Ретроспективное исследование	169
4.2	Одномоментное исследование	174
4.3	Проспективное исследование	179
4.4.	Экспериментальное исследование	189
ЗАКЛЮЧЕНИЕ		193
ВЫВОДЫ		196
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ		198
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ		199
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ		200

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

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 [1]. Одним из основных метаболических исходов ожирения является сахарный диабет 2 типа (СД 2) [2, 3]. Однако, клинические исследования показывают, что среди пациентов с ожирением от 20 до 40% составляют пациенты без нарушений углеводного метаболизма [4, 5].

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 [6, 7]. 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 используемые 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 [8]. 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 большинства 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.

Методология и методы исследования

Научная работа состоит из трех клинических и одной экспериментальной частей. В рамках выполнения задач исследования было проведено комплексное обследование пациентов для выявления факторов, способствующих сохранению нормальных показателей углеводного обмена при ожирении. Были использованы современные лабораторные и инструментальные методы исследования, экспериментальная часть работ проведена на лабораторных животных. Используемые методы статистического анализа соответствовали поставленным задачам. Подробное описание методологии и методов исследования представлены в главе 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.

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 CODHy), 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 (ЕСО/ICO), 2020;
- 14 международная конференция по передовым технологиям в лечении диабета (14th ATTD), 2021;
- 28 Европейский конгресс по ожирению (ЕСО), 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.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ожирение и риск развития СД 2

Ожирение является одним из наиболее значимых факторов риска развития сахарного диабета 2 типа (СД 2) [2]. Однако, по данным международных и российских эпидемиологических исследований далеко не все пациенты, страдающие ожирением, заболевают СД 2 [9-11]. Такой феномен получил название «метаболически здорового ожирения».

Концепция «метаболически здорового ожирения» возникла в конце 20 века по результатам клинических наблюдений, говоривших о том, что даже в условиях длительно существующего выраженного ожирения у ряда пациентов не развиваются грозные метаболические осложнения, такие как СД 2, дислипидемия, гиперурикемия, сердечно-сосудистые заболевания и др. [12, 13]. Такие наблюдения послужили основой для проектирования эпидемиологических исследований, направленных на оценку распространенности ожирения без метаболических расстройств. В ходе данных исследований было подтверждено, что у многих пациентов, страдающих ожирением, не развивается СД 2 [9, 10]. Крупное российское эпидемиологическое исследование ESSE-RF показало, что более 40% пациентов с ожирением могут относиться к категории метаболически здоровых [11]. Ряд других исследований говорит о более скромных значениях распространенности здорового ожирения: в анализе когортных исследований, проведенных в странах Европы, частота «метаболически здорового ожирения» составляла от 7% до 28% у женщин и от 2% до 19% у мужчин [14].

Различия в показателях распространенности «метаболически здорового ожирения» связаны с отсутствием единого подхода к определению данного состояния. Наиболее классическим методом распределения ожирения на здоровое и нездоровое является использование критериев метаболического синдрома NCEP ATP III [15]. Этот подход подразумевает отнесение пациентов

к группе «метаболически здорового ожирения» при отсутствии у них диагноза метаболического синдрома. Однако помимо данного способа дифференцировки фенотипов ожирения, авторы используют также другие подходы к определению метаболически неосложненного ожирения: оценивается в различных комбинациях выраженность висцерального ожирения, степень инсулинорезистентности (ИР), наличие нарушений углеводного обмена, дислипидемии, артериальной гипертензии, повышения провоспалительных маркеров и др. [16]. Распространенность «метаболически здорового ожирения» в РФ также зависит от примененных критериев его диагностики: так, в Московском регионе данный фенотип встречался с частотой от 9,6% (при полном отсутствии компонентов метаболического синдрома кроме увеличения окружности талии (ОТ)) до 38,6% (с учетом критериев IDF 2005) [4]. В г. Новосибирск распространенность «метаболически здорового ожирения» согласно критериям NCEP ATP III составила 41,8% [17].

В нашей работе все показатели «метаболического здоровья» у лиц с ожирением не оценивались, основной акцент был сделан на оценке факторов, предрасполагающих или, наоборот, защищающих от развития нарушений углеводного обмена.

Субанализ эпидемиологического исследования NATION показал, что даже среди лиц с $ИМТ \geq 40 \text{ кг/м}^2$ отсутствие нарушений углеводного обмена (СД 2 и предиабета) наблюдалось более, чем у 40% пациентов [18]. Этот факт дает основание для выделения группы пациентов с защитным фенотипом ожирения и для поиска причин сохранения нормогликемии у этих лиц на фоне длительной персистенции ожирения.

2. Факторы, способствующие развитию СД 2 у лиц с ожирением

Понимание причин развития СД 2 у одних пациентов с ожирением и отсутствия СД 2 у других может помочь найти пути профилактики нарушений углеводного обмена.

К факторам, влияющим на поддержание нормогликемии у лиц с ожирением, можно отнести поведенческие, гормональные, генетические и другие факторы [19]. Данные параметры можно подразделить на модифицируемые и немодифицируемые факторы риска. Для составления обзора литературы, посвященного факторам поддержания нормального углеводного обмена у лиц с ожирением, проводился поиск источников литературы в научной электронной библиотеке (e-library), The Cochrane Library (cochranelibrary.com), базе данных Medline (pubmed.org).

2.1 Роль образа жизни в развитии СД 2 у лиц с ожирением

Влияние образа жизни на риск развития ожирения и СД 2 неоспоримо. Несмотря на сложность количественной оценки рациона питания и физической активности у пациентов, проводились исследования, посвященные влиянию образа жизни на развитие метаболических нарушений у лиц с ожирением.

При комплексном анализе влияния рациона питания, а не отдельных его компонентов, на риск развития гипергликемии у пациентов с ожирением, выяснилось, что соблюдение принципов «здорового питания» приводит к снижению вероятности развития СД 2, как и других компонентов метаболического синдрома. Это было показано на примере Средиземноморского типа питания [20], Голландского когортного исследования образа жизни [21], мета-анализа качества потребляемых углеводов [22]. Все эти исследования говорят о том, что следование принципам рационального питания (ограничение общей калорийности

рациона, насыщенных жиров, простых углеводов, увеличение потребления овощей и продуктов, богатых пищевыми волокнами [23]) приводит к снижению риска развития нарушений углеводного обмена.

Не только рациональное питание, но и увеличение физической активности благоприятно влияет на метаболические исходы у лиц с избыточной массой тела и ожирением [24, 25]. Соблюдение сразу нескольких правил здорового образа жизни (увеличение физической активности, приверженность рациональному питанию, поддержание нормальной массы тела, умеренное употребление алкогольных напитков и отказ от курения) приводило не только к снижению риска СД 2, но и онкологических заболеваний, а также увеличению общей продолжительности жизни [26].

Однако в рутинной клинической практике зачастую сложно провести комплексную оценку всех поведенческих факторов и было бы удобно иметь быстрый для оценки маркер повышенного риска развития СД 2 у пациента с избыточной массой тела и ожирением. Для клинической практики может быть полезна оценка легко доступных показателей (особенностей анамнеза, простых в оценке характеристик образа жизни), по которым уже в ходе опроса врач мог бы быстро отнести пациента с ожирением к группе большего или меньшего риска развития СД 2.

2.2 Различия в распределении жировой ткани как фактор риска СД 2

Универсальным способом диагностики избыточной массы тела и ожирения является определение индекса массы тела (ИМТ), вычисляемого как отношение веса (кг) на рост (м), возведенный в квадрат. Этот способ удобен, быстр и доступен каждому врачу.

Недостаток данного способа диагностики ожирения заключается в том, что он не дает понятия о распределении жировых депо. Поэтому дополнительным методом обследования пациентов с ожирением является определение выраженности абдоминального (висцерального) ожирения. Она

проводится на основании определения окружности талии (ОТ), окружности бедер (ОБ), или их соотношения (ОТ/ОБ). Согласно Европейским рекомендациям по лечению ожирения у взрослых нормальными считаются значения ОТ у женщин < 80 см, у мужчин < 94 см; ОТ/ОБ < 0,8 у женщин, у мужчин < 0,9 [23]. Повышение кардиометаболического риска отмечается при значениях ОТ > 88 см у женщин и > 102 у мужчин. Более точно определить выраженности висцерального ожирения возможно с помощью визуализирующих методик (УЗИ, КТ, МРТ), а также биоимпедансометрии [27].

Важность определения выраженности подкожного и висцерального депо жировой ткани заключается в том, что равном количестве общей жировой ткани у пациентов с преобладанием висцерального депо происходит существенное возрастание риска сердечно-сосудистых и метаболических заболеваний [3]. Более того, было доказано увеличение смертности у лиц без диагноза «ожирение» согласно ИМТ, но с высоким значением ОТ, отражающим наличие висцерального ожирения. Так, в исследовании, проведенном среди женщин с различным ИМТ и различной выраженностью висцерального ожирения, было выявлено, что пациентки с нормальным ИМТ и высоким значением ОТ имеют на 25% более высокий риск смерти от сердечно-сосудистых заболеваний и на 20% более высокий риск смерти от онкологической патологии по сравнению с женщинами без ожирения и нормальной ОТ [28]. Более того, в данном исследовании группа женщин с нормальным ИМТ и высоким значением ОТ находилась в зоне большего риска смертности от различных причин по сравнению с женщинами с ожирением, но нормальной ОТ. Объяснение данного феномена может заключаться в том, что у лиц с нормальным ИМТ и абдоминальным ожирением уменьшено количество мышечной массы, обладающей защитным эффектом от развития метаболических и сердечно-сосудистых осложнений. Выделение лиц с нормальным ИМТ и абдоминальным ожирением важно с практической точки зрения, так как врачи часто обходят вниманием данную группу пациентов,

считая их здоровыми. Тем не менее, повышенный риск смертности у такой категории пациентов диктует необходимость подходить к их обследованию более тщательно.

Для риска развития метаболических осложнений у лиц с ожирением значение может иметь не только избыток жировой ткани в абдоминальной области, но и инфильтрация жировой тканью различных органов. Эктопический тип отложения жировой ткани, также как и абдоминальный тип, ассоциирован с увеличением риска СД 2 типа, атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний, болезней печени и онкологии [29, 30]. Известна связь между неалкогольной жировой болезнью печени и развитием нарушений углеводного обмена [31]. В исследовании, проведенном среди пациентов без СД 2 было показано, что увеличение отношения объема перикардального жира к подкожному ассоциировалось с более высокими значениями инсулинорезистентности (ИР) [32]. Эти данные говорят в пользу того, что распределение жировой ткани, а не только размер висцерального депо, имеет значение для определения метаболического риска пациентов.

Несмотря на понимание негативного метаболического влияния абдоминального и эктопического ожирения, причины «диабетогенного» эффекта накопления жировой ткани в данных депо до конца не изучены. Мы предполагаем наличие различий в физиологии подкожной и висцеральной жировой ткани.

2.3 Гормональный профиль как фактор риска СД 2 при ожирении

К «классическим» гормонам, влияющим на жировую ткань, относятся гормоны щитовидной железы, надпочечников, половые гормоны, гормон роста и пролактин. Необходимо отметить, что эндокринные причины ожирения встречаются относительно редко по сравнению с алиментарными причинами.

Тяжелые формы гипер- и гипотиреоза могут приводить к выраженным изменениям количества жировой ткани. Тем не менее, более частое «мягкое» течение данных заболеваний не обязательно ассоциируется с изменением веса. В популяционных исследованиях уровень тиреотропного гормона (ТТГ) сыворотки положительно коррелировал с ИМТ и изменением массы тела [33]. В некоторых работах пациенты с уровнем ТТГ на верхней границе нормы имели более высокий показатель ИМТ, более выраженную гипертриглицеридемию и чаще страдали от компонентов метаболического синдрома по сравнению с лицами с более низким уровнем ТТГ [34]. Также отмечалась связь между увеличением ТТГ и окружностью талии у женщин с избыточной массой тела и ожирением. Тем не менее, часть исследований не демонстрировала связи повышения ТТГ (в рамках субклинического гипотиреоза) и развития метаболического синдрома [35].

Гиперкортицизм приводит к специфическому перераспределению жировой ткани. Это обусловлено эффектами глюкокортикоидов, которые увеличивают аппетит с преимущественным потреблением высококалорийной пищи, вызывают избыточное накопление белой жировой ткани в абдоминальной области и подавляют активность бурой жировой ткани [36]. В то же время при ожирении рутинный скрининг на наличие гиперкортицизма чаще всего дает отрицательный результат [37]; это может быть связано с тем, что увеличение уровня кортизола происходит не столько системно, сколько локально внутри адипоцита [38].

Согласно рекомендациям Европейского общества эндокринологов всем пациентам с ожирением показано определение ТТГ, тогда как лабораторная оценка гиперкортицизма показана лишь при наличии клинических симптомов [39].

Эстрогены являются одними из важнейших регуляторов адипогенеза и депонирования жировой ткани. Женщины обычно имеют меньшую выраженность висцерального ожирения и лучшую чувствительность к инсулину по сравнению с мужчинами; в постменопаузе потеря функций

эстрогенов обуславливает накопление висцерального жира, а также увеличение сердечно-сосудистого риска, риска развития СД 2 и рака молочной железы [40]. Адипоциты человека экспрессируют два типа рецепторов к эстрогенам: ER α и ER β . Эстрадиол путем воздействия на ER α рецепторы оказывает позитивное воздействие на метаболизм глюкозы.

Нормальный уровень тестостерона поддерживает оптимальную массу мышечной ткани и ограничивает накопление жировой ткани. Дефицит тестостерона сопровождается метаболическими заболеваниями, снижением чувствительности к инсулину, нарушением толерантности к глюкозе и дислипидемии [41]. Назначение тестостерона мужчинам с гипогонадизмом уменьшает общее количество жировой ткани, улучшает чувствительность к инсулину и снижает риск сердечно-сосудистых заболеваний [42].

Дефицит гормона роста снижает процент мышечной и увеличивает процент жировой ткани, в особенности висцерального депо. Терапия гормоном роста приводит к нормализации соотношения мышечной и жировой ткани, однако по данным исследований не снижает инсулинорезистентность, вероятно, вследствие прямого подавляющего влияния гормона роста на действие инсулина. Как результат, у пациентов, получающих терапию гормоном роста, не отмечается снижения риска развития СД 2 по сравнению с пациентами без терапии [43].

Гормоны, вовлеченные в процесс поддержания беременности, родов и лактации, по последним данным также могут влиять на метаболические параметры. Функции пролактина связаны не только с лактацией и регуляцией работы репродуктивной системы, но и регуляцией метаболических функций [44]. Обширная представленность рецептора к пролактину в различных тканях связана с необычайно разнообразными функциями данного гормона. Благодаря наличию рецепторов на адипоците, пролактин участвует в дифференцировке клеток жировой ткани как белой, так и бурой.

Для описанных гормонов нарушение секреции приводит к известным клиническим проявлениям и заболеваниям. Однако известно еще большее

количество веществ с гормональной активностью, выделяемых другими органами. К веществам, обладающим активностью в отношении регуляции массы тела, относятся, в частности, гормоны желудочно-кишечного тракта и адипокины.

2.4 Гормоны желудочно-кишечного тракта в развитии ожирения и СД 2

Впервые о влиянии гормонов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) на секрецию инсулина и контроль гликемии стало известно с 1960-х годов. Открытие стимулирующего эффекта холецистокинина (ХЦК) на насыщение произошло в 1970-м, а к 2000-м годам стало известно о десятке гормонов ЖКТ, вовлеченных в процесс регуляции аппетита [45]. В последние десятилетия с каждым годом растет число изученных гормонов, участвующих в регуляции аппетита и веса [46, 47]. Наиболее значимая роль среди гормонов ЖКТ, влияющих на вес и аппетит, отведена инкретиновым гормонам. Самыми выраженными инкретиновыми свойствами обладает ГПП-1. Этот гормон секретируется в дистальном отделе тонкой кишки, а именно в L-клетках подвздошной кишки в ответ на прием пищи. ГПП-1 влияет на вес за счет центральных механизмов: в ядрах гипоталамуса этот гормон стимулирует орексигенные нейропептиды (агутиподобный белок и нейропептид Y) и ингибирует анорексигенные (кокаин-амфетамин регулирующий транскрипт и пропиомеланокортин) [48]. Эффект ГПП-1 оказался столь выраженным, что на основании данной молекулы был разработан класс препаратов агонистов рецепторов ГПП-1, один из которых – лираглутид в дозе 3.0 мг – зарегистрирован для лечения избыточной массы тела и ожирения. Другие представители класса агонистов рецепторов ГПП-1 проходят исследования у лиц с ожирением.

Однако ГПП-1 не является единственной молекулой из группы инкретиновых гормонов. Первым представителем инкретинов был глюкозозависимый инсулиноотропный полипептид (ГИП). Влияние ГИП на

массу тела является противоречивым. С одной стороны, в эксперименте отмечается стимулирующее влияние ГИП на аккумуляцию жировой ткани: так, у мышей, лишенных рецепторов к ГИП, не развивается ожирение. Более того, применение антагониста рецептора к ГИП приводило к снижению набора веса у мышей, получающих высококалорийное питание, и к снижению веса у мышей с ожирением [49, 50]. Успешные результаты по предотвращению ожирения у грызунов наблюдались в исследовании вакцины против ГИП [51]. По данным наших ранних исследований у пациентов с ожирением секреция ГИП была повышена по сравнению с лицами с нормальным ИМТ [52].

С другой стороны, в настоящий момент разрабатываются лекарственные молекулы – полиагонисты рецепторов, которые одновременно стимулируют рецепторы ГПП-1, ГИП и/или глюкагона. По данным исследования двойного агониста ГПП-1 и ГИП тирзепатида стимуляция рецепторов обоих инкретиновых гормонов обладает более выраженным эффектом в отношении снижения HbA1c и массы тела по сравнению с одним из наиболее эффективных представителей класса агонистов рецептора ГПП-1 семаглутидом [53].

Глюкагон традиционно воспринимается как гормон, действие которого необходимо подавить у лиц с СД 2. Однако в последнее время лекарственной точкой приложения глюкагона является ожирение. Еще в 1957 году было отмечено, что глюкагон может снижать аппетит. Инфузия глюкагона вызывает увеличение расхода энергии и снижение потребления пищи. Данная комбинация эффектов глюкагона делает его привлекательной мишенью для создания лекарственных препаратов против ожирения, так как обычно препараты, способствующие увеличению расхода энергии, приводят к увеличению аппетита, и, наоборот, препараты, направленные на снижение потребления пищи, вызывают снижение расхода энергии [54].

Помимо инкретинов ключевыми гормонами ЖКТ, контролирующими прием пищи, являются грелин, ХЦК, и пептид YY. Эти гормоны участвуют в формировании трех составляющих, влияющих на количество принимаемой

пищи: 1) чувства голода; 2) чувства насыщения, являющегося причиной окончания приема пищи; 3) чувства постпрандиальной сытости, обуславливающего наличие промежутков между приемами пищи.

Грелин – пептидный гормон, продуцируемый преимущественно этерозндокринными клетками дна желудка. Является «гормоном голода», уровень грелина в плазме стремительно увеличивается по мере увеличения промежутка после последнего приема пищи [55]. Грелин действует на уровне центральной нервной системы и периферии. В гипоталамусе грелин повышает активность анаболических НПУ/АПБ-содержащих нейронов и подавляет эффекты катаболических ПОМК/КАРТ-продуцирующих нейронов, что повышает аппетит [56]. На периферии грелин стимулирует опорожнение желудка, что приводит к более быстрому попаданию пищи в тонкую кишку; поступающие из тонкой кишки сигналы о начале всасывания нутриентов по механизму отрицательной обратной связи ингибируют секрецию грелина. У лиц с ожирением концентрация грелина снижается, что, по-видимому, связано с подавлением его секреции под действием пищи с высоким содержанием жиров [57]. Роль грелина как гормона, стимулирующего аппетит, в развитии ожирения велика, еще существеннее проявляется его негативное влияние в обратном наборе массы тела после похудения. По данным исследования, проведенного среди 50 пациентов, похудевших на фоне сверхнизкокалорийной диеты, повышенные уровни грелина сохранялись не только во время ограничения питания, но и через год после окончания такой диеты [58]. Одним из наиболее весомых доводов в пользу важной роли грелина в наборе веса является эффективность проведения бариатрических вмешательств. Операции, сопровождающиеся резекцией желудка (во время которой удаляется грелин-продуцирующая зона), вызывают существенное и стойкое снижение массы, существенно превышающее эффективность любых медикаментозных воздействий на массу тела [59]. Это доказывает значимость элиминации действия грелина для снижения массы тела и поддержания достигнутого результата. Тем не менее, фармакологическая блокада действия

грелина пока не привела к созданию препаратов, направленных на лечение алиментарного ожирения или СД 2 [60]. Есть данные, говорящие о возможной эффективности применения неацелированного грелина, ингибирующего эффекты самого гормона: введение данного вещества снижает выраженность гиперфагии у пациентов с синдромом Прадера-Вилли [61].

Холецистокинин – пептидный гормон, вырабатываемый в I-клетках проксимальной части тонкой кишки (двенадцатиперстной и тощей). ХЦК является наиболее изученным «гормоном насыщения». Этот гормон вырабатывается в ответ на попадание нутриентов в тонкую кишку, его функция заключается в замедлении опорожнения желудка и снижении постпрандиальной гликемии. Снижение эффектов ХЦК может приводить к ожирению и СД 2: так, полиморфизм гена рецептора ХЦК *ССКАR* сопровождался увеличением частоты приема пищи, увеличением порций и развитием ожирения [62].

Пептид YY – гормон дистальной части тонкой кишки, вырабатываемый в ответ на попадание пищи в просвет кишки (преимущественно липидов). Изучение физиологии пептида YY затруднено в связи со сложностью его лабораторного определения. Считается, что пептид YY замедляет опорожнение желудка и уменьшает аппетит, но эти данные противоречивы. Также неоднозначна связь пептида YY и ожирения [63, 64].

Ключевые гормоны ЖКТ, играющие роль в регуляции аппетита и веса, представлены в таблице 1 [65].

Таблица 1. Ключевые гормоны ЖКТ, участвующие в регуляции веса

Гормон	Место синтеза	Стимул для секреции	Основные функции
Грелин	Желудок	Опустошение желудка	<ul style="list-style-type: none"> • Стимулирует аппетит • Усиливает моторику ЖКТ • Снижает глюкозозависимую секрецию инсулина • Стимулирует выработку гормона роста

Холецистокинин	I-клетки 12-перстной и тощей кишки	Жирные кислоты и аминокислоты в просвете кишки	<ul style="list-style-type: none"> • Выделение желчи и ферментов поджелудочной железы • Секреция инсулина, глюкагона, панкреатического полипептида • Замедление опустошения желудка • Стимуляция насыщения
Пептид YY	L-клетки дистальной части тонкой кишки	Нутриенты в просвете кишки	<ul style="list-style-type: none"> • Стимулирует насыщение • Уменьшает опорожнение желудка
ГПП-1	L-клетки подвздошной кишки	Нутриенты в просвете кишки	<ul style="list-style-type: none"> • Глюкозозависимая секреция инсулина • Снижает опорожнение желудка и моторику ЖКТ • Стимулирует насыщение
ГИП	K-клетки 12-перстной и тощей кишки	Нутриенты в просвете кишки	<ul style="list-style-type: none"> • Глюкозозависимая секреция инсулина • Стимулирует насыщение • Стимулирует постпрандиальное увеличение уровня глюкагона
Гастрин	G клетки желудка и 12-перстной кишки	Растяжение желудка	<ul style="list-style-type: none"> • Увеличивает продукцию соляной кислоты, пепсиногена, ферментов поджелудочной железы, желчи • Стимулирует насыщение
Секретин	S-клетки 12-перстной кишки	Низкий pH в просвете кишки	<ul style="list-style-type: none"> • Стимулирует продукцию бикарбоната • Снижает секрецию гастрина и продукцию желудочного сока • Снижает моторику ЖКТ
Вазоактивный интестинальный полипептид	Парасимпатические нервные волокна	Стимуляция вагуса	<ul style="list-style-type: none"> • Стимулирует выход воды и электролитов из клеток в просвет кишки • Снижение продукции желудочного сока
Панкреатический полипептид	PP клетки поджелудочной железы	Нутриенты, особенно белки	<ul style="list-style-type: none"> • Регулирует продукцию гормонов и ферментов поджелудочной железы • Стимулирует насыщение

2.5 Адипокины в развитии ожирения и СД 2

Открытие адипокинов (гормонов, секретируемых адипоцитами) перевернуло представление о жировой ткани как о гормонально «инертном» органе, оказывающем свое негативное воздействие за счет накопления триглицеридов, усиления ИР и масс-эффекта (увеличения нагрузки на суставы нижних конечностей, развитие синдрома обструктивного апноэ сна, гастроэзофагеальной рефлюксной болезни и т.д.).

К гормонам, секретируемым жировой тканью, относится большое количество биологически-активных веществ: лептин, адипонектин, резистин, висфатин, адипоцитарный белок-переносчик жирных кислот (FABP4), оментин, ретинол-связывающий белок 4, а также цитокины интерлейкин-6, фактор роста фибробластов 21 и другие. Все они напрямую или косвенно влияют на состояние углеводного обмена. К наиболее изученным адипокинам относят лептин и адипонектин.

Лептин в большей степени секретируется подкожной, а не висцеральной жировой тканью, способствует снижению аппетита. У пациентов с ожирением концентрация лептина возрастает пропорционально массе тела, однако это не приводит к снижению веса, что позволило предположить наличие у лиц с ожирением «лептинорезистентности» [66]. Существуют данные, что данный феномен может предшествовать развитию диет-индуцированного ожирения у животных с исходно нормальной массой тела [67]. Объяснение феномена «лептинорезистентности» может заключаться как в изменении структуры генов, кодирующих лептин или его рецептор, нарушении внутриклеточных механизмов передачи лептинового сигнала, так и в препятствии транспорта избыточного количества лептина через гемато-энцефалический барьер [68]. Варианты ожирения, связанные с генетическим дефектом лептина или его рецептора, представляют редкие формы моногенного ожирения.

У пациентов с экзогенно-конституциональным ожирением и СД 2 применение аналога лептина (метрелептин) не позволяло достичь снижения массы тела и компенсации углеводного обмена [69, 70], однако этот препарат зарегистрирован FDA для лечения пациентов с генерализованной липодистрофией [71]. Также для пациентов с редкими формами моногенного ожирения (дефицит рецептора лептина, проопиомеланокортина или прогормонконвертазы 1 типа) FDA одобрило применение агониста рецептора меланокортина 4 типа (сетмеланотид) [72].

В отличие от уровня лептина секреция адипонектина снижается при ожирении [73], что негативно сказывается на контроле гликемии, так как адипонектин улучшает чувствительность к инсулину, обладает эффектом по нормализации липидного профиля и имеет противовоспалительные свойства [74]. При сопоставлении групп пациентов с различными комбинациями метаболического риска наиболее высокий уровень адипонектина наблюдался у пациентов без ожирения и метаболических нарушений, а наиболее низкий – у пациентов с ожирением и СД 2, артериальной гипертензией и дислипидемией [75]. В том же исследовании пациенты с «метаболически здоровым» ожирением имели значения адипонектина близкие к группе лиц без ожирения, что позволило авторам сделать вывод о том, что низкий уровень адипонектина может являться маркером метаболических нарушений при ожирении.

В научных исследованиях соотношение адипонектин/лептин используется в качестве маркера дисфункции жировой ткани. Уменьшение значения данного индекса (за счет снижения уровня адипонектина и/или увеличения уровня лептина) наблюдается у пациентов с ожирением по сравнению с лицами с нормальной массой тела, а также снижается прогрессивно у пациентов с нарушением гликемии натощак и СД 2 по сравнению с лицами без нарушений углеводного обмена [76].

2.6 Генетические причины ожирения и ассоциированных нарушений углеводного обмена

В исследованиях, проводимых у близнецов показано, что на 25-50% ожирение является состоянием с наследственной предрасположенностью [77]. Возрастание числа пациентов с ожирением объясняется сохранением в популяции «бережливых» генов, стимулирующих запасание энергии на случай голода. В далекие времена носители таких генов неминуемо погибали бы от хищников, что должно было обеспечивать элиминацию данных генов, однако в настоящий момент данные гены сохраняются в популяции [78].

Экспериментальные генетические модели ожирения были созданы в условиях нокаута генов, кодирующих лептин и его рецептор (мутации *ob* и *db*, соответственно), что приводило к блокировке сигнала от лептина на аркуатное ядро гипоталамуса и снижению процессинга проопиомеланокортина и активации сигнала от агути-подобного белка. У человека же такие мутации редки. Наиболее частой моногенной формой ожирения у человека является мутация рецептора меланокортина 4 типа (*MC4R*), клинически проявляющаяся в развитии ожирения с первых месяцев жизни в сочетании с высокорослостью, а также высоким процентом «тощей массы» и минеральной плотности костей [79]. В целом, согласно клиническим рекомендациям, поиск моногенных причин ожирения рекомендован у детей с SDS ИМТ $\geq +2,0$ при наличии ожирения с первых лет жизни в сочетании с задержкой нервно-психического развития и стигмами дисэмбриогенеза [80].

С учетом редкой встречаемости моногенных форм ожирения перспективным направлением для оценки ассоциации между генетическими маркерами и фенотипическими признаками стал полногеномный поиск ассоциаций (GWAS). Этот метод исследования направлен на оценку связи между однонуклеотидными полиморфизмами и наличием заболевания [81]. На основании ряда обнаруженных полиморфизмов составляется индекс полигенного риска для соответствующего заболевания. Для создания такого

индекса требуется большое количество включенных испытуемых; так, например, в исследовании Khera A.V. и соавт. [82] было проанализировано более 2 млн генетических вариантов, благодаря чему удалось создать индекс полигенного риска, способный выделять лиц с высокой предрасположенностью к развитию ожирения. За последние годы также было обнаружено также более 700 полиморфизмов, связанных с повышенным риском развития гипергликемии [83-85]. Более того, использование индексов полигенного риска с поправками на антропометрические параметры, такие как ИМТ, позволяет улучшить предсказательную способность индекса в отношении риска развития СД 2 [86]. Тем не менее, ограничение применения данных индексов заключается в том, что в большинстве своем они были разработаны на материале, полученном от лиц европеоидной расы, поэтому клиническое применение данных индексов возможно после валидации на других этносах.

Несмотря на сохранение «бережливых» генов в популяции, одни лишь генетические изменения не могут объяснить стремительный рост числа пациентов с ожирением и СД 2. Поэтому все большее внимание приковывают к себе факторы эпигенетической регуляции – процесса, приводящего к изменению активности гена без изменений в его кодирующей последовательности. Эпигенетические изменения могут быть обратимыми и нет, более того, часть эпигенетических изменений может наследоваться [87]. Уровни эпигенетических изменений различны: данные модификации могут происходить на уровне ДНК, не затрагивая при этом его первичной структуры, на уровне РНК (транскриптома) и белков (протеома). Обнаружение эпигенетических модификаций, стимулирующих развитие ожирения и СД 2, а также изучение влияния внешних факторов на развитие данных модификаций сможет объяснить повышение восприимчивости организма к факторами окружающей среды и увеличение среднего ИМТ в популяции.

Одной из ключевых и наиболее изученных эпигенетических модификаций на уровне генома является метилирование ДНК. Получены

данные о различных участках ДНК, метилирование которых отличается в группах пациентов с наличием ожирения и без, а также с наличием СД 2 и без [88, 89].

Среди эпигенетических механизмов регуляции экспрессии генов большая роль отводится модификации гистонов – ядерных белков, участвующих в упаковке нитей ДНК, а также регуляции процессов транскрипции, репликации. Была продемонстрирована важная роль данных эпигенетических модификаций в развитии ожирения и метаболических расстройств [90, 91]. Ингибиторы гистоновых деацетилаз и деметилаз лизина в эксперименте продемонстрировали способность улучшать секреторную способность бета-клеток поджелудочной железы [92].

Одним из способов регуляции экспрессии генов на уровне РНК является воздействие микроРНК (миРНК). Это малые некодирующие РНК длиной около 20-25 нуклеотидов, вовлеченные в процесс регуляции экспрессии генов на посттрансляционном уровне. Функция миРНК направлена на деградацию, нарушение стабильности или ингибирование трансляции таргетной мРНК, благодаря чему миРНК могут регулировать активность процессов дифференцировки и пролиферации клеток [92]. При ожирении была продемонстрирована роль миРНК в регуляции метаболических и кардиоваскулярных осложнений ожирения [93-95].

3. Заключение по обзору литературы

Ожирение и сахарный диабет 2 типа – заболевания с прогрессивно возрастающей распространенностью. Оба этих состояния опасны своими сосудистыми осложнениями, которую обуславливают раннюю смертность. Для создания дифференцированного подхода к оказанию помощи данным пациентам необходимо уточнение факторов риска быстрого прогрессирования нарушений углеводного обмена с целью выделения различных фенотипов ожирения: защитного фенотипа и фенотипа высокого риска развития СД 2.

В последние годы проводится поиск причин длительного существования ожирения без метаболических нарушений, тем не менее четкого объяснения такого варианта ожирения нет. Для объяснения феномена отсутствия СД 2 у пациентов с длительным ожирением предполагаются различия на генетическом уровне, особенности функциональной активности периферической и висцеральной жировой тканей, особенности секреции гормонов желудочно-кишечного тракта и жировой ткани и другие.

Величина вклада каждого из этих параметров возможна при комплексном анализе факторов, способствующих сохранению нормогликемии, в одной когорте пациентов с ожирением.

Понимание причин развития СД 2 у одних пациентов с ожирением и отсутствия СД 2 у других может помочь найти пути профилактики нарушений углеводного обмена. С практической точки зрения полезным является выявление характерных особенностей защитного (без СД 2) фенотипа ожирения. Знание таких особенностей позволит оценивать риск развития СД 2 у лиц с ожирением и установить оптимальную частоту наблюдения за пациентами – менее интенсивную для пациентов с защитными факторами и более интенсивную для лиц с факторами риска.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общий дизайн исследования

В ходе планирования исследования был определен ряд задач в соответствии с целью работы. Для выполнения задач требовалась проработка дизайна нескольких частей исследования. Всего было проведено четыре отдельных исследования, 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, 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 характеристиками 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 изменения патофизиологических механизмов формирования 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. Так как у людей на проведение данного исследования может потребоваться несколько лет – десятилетия, то 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.

В ходе дальнейшего описания четыре части исследования именуются этапами. Несмотря на то, что в каждую часть исследования были включены различные когорты пациентов/ экспериментальные животные, логическая последовательность решения задач позволяла нам говорить об этапности проводимых работ.

Общий дизайн исследования приведен на схеме 1.

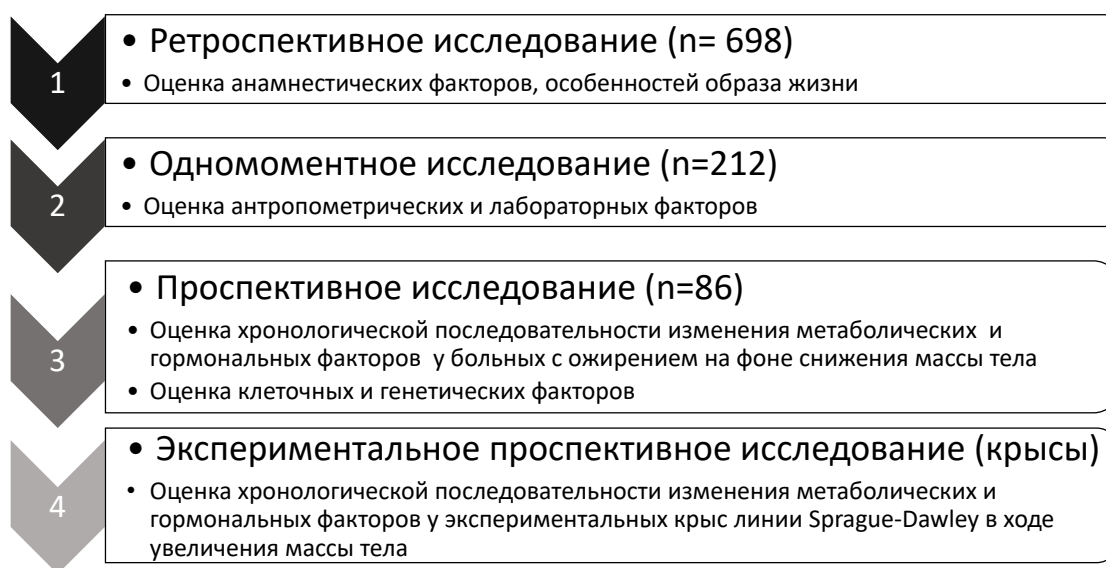


Схема 1. Этапы исследования

Источник финансирования

Части исследования выполнены при поддержке гранта РФФ «Ожирение и сахарный диабет: поиск протективных генетических, гормонально-метаболических и молекулярно-клеточных факторов, препятствующих развитию сахарного диабета у лиц с ожирением» (соглашение №17-15-01435), а также гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение №075-15-2020-784)

Этап 1. Ретроспективное исследование

Первый этап исследования имел своей целью оценить возможность сохранения нормогликемии у лиц с длительным анамнезом ожирения, а также выявить наличие у пациентов с ожирением анамнестических факторов, особенностей образа жизни и сопутствующих заболеваний, ассоциированных с СД 2. 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: длительность избыточной массы тела или ожирения (период, который указал пациент при ответе на вопрос о длительности его жалоб на избыточный вес); наличие избыточной массы тела или ожирения в детском и подростковом периодах (до 16 лет); возраст дебюта избыточной массы тела или ожирения (в годах); максимальный вес (в кг); период максимального веса (пациенты отвечали на вопрос «Когда у Вас наблюдался максимальный вес?»); анамнез избыточной массы тела или ожирения у родственников; наличие попыток снижения массы тела,
- 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: СД 2, предиабет, артериальная гипертензия (АГ), ишемическая болезнь сердца (ИБС), перенесенный инфаркт миокарда (ИМ), синдром обструктивного апноэ сна (СОАС), хроническая венозная недостаточность, холелитиаз, мочекаменная болезнь (МКБ), гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ), язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, недержание мочи, нарушение менструального цикла у женщин, бесплодие у женщин, хроническая боль в спине, грыжи брюшной стенки.

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.

Статистический анализ и степень достоверности результатов

Анализ проведен с использованием ППП Statistica 13.3, попарный анализ проведен в статистическом пакете MedCalc. Описательные статистики количественных данных представлены в виде медиан и интерквартильного размаха [Q1; Q3], а также минимума и максимума для ряда показателей. Распределения качественных данных представлены в виде абсолютных и относительных частот. При поперечном анализе групп для сравнения количественных показателей использовался непараметрический тест Манна-Уитни, для качественных показателей – критерий χ^2 по Пирсону; в попарном анализе - критерий Вилкоксона для количественных признаков, критерий Кокрана для качественных признаков. При оценке времени до наступления исхода был применен одномерный анализ (лог-ранговый тест для бинарных

показателей, критерий χ^2 для категориальных показателей). Проблема множественных сравнений решалась установкой порогового уровня значимости $p=0,001$. Рассчитанные уровни значимости в интервале $[0,001; 0,049]$ рассматривали как свидетельство статистической тенденции.

Этап 2. Одномоментное исследование

Во второй этап исследования исследование 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 моложе 30 лет с ИМТ 18.5-25 кг/м² (контроль)
- Лица в возрасте 30 лет и старше с неизвестным статусом углеводного обмена
- Лица в возрасте 30 лет и старше с установленным диагнозом СД 2 на сахароснижающих препаратах (ССП)

Лицам с ранее неизвестным статусом углеводного обмена была проведена оценка уровня гликированного гемоглобина (HbA1c), после чего данные пациенты в зависимости от ИМТ и HbA1c были разделены на 4 группы: пациенты с избыточной массой тела и HbA1c < 6% (« -Ожирение - СД»), пациенты с избыточной массой тела и HbA1c ≥ 6% (« - Ожирение +СД»), с ожирением и HbA1c < 6% (« +Ожирение - СД»), с ожирением и HbA1c ≥ 6% (« +Ожирение +СД»). В обозначении групп наличие нарушений углеводного обмена (предиабета и СД при уровне HbA1c ≥ 6%) сокращалось до «СД» для краткости.

Принцип формирования групп 2 этапа исследования представлен на схеме 2.

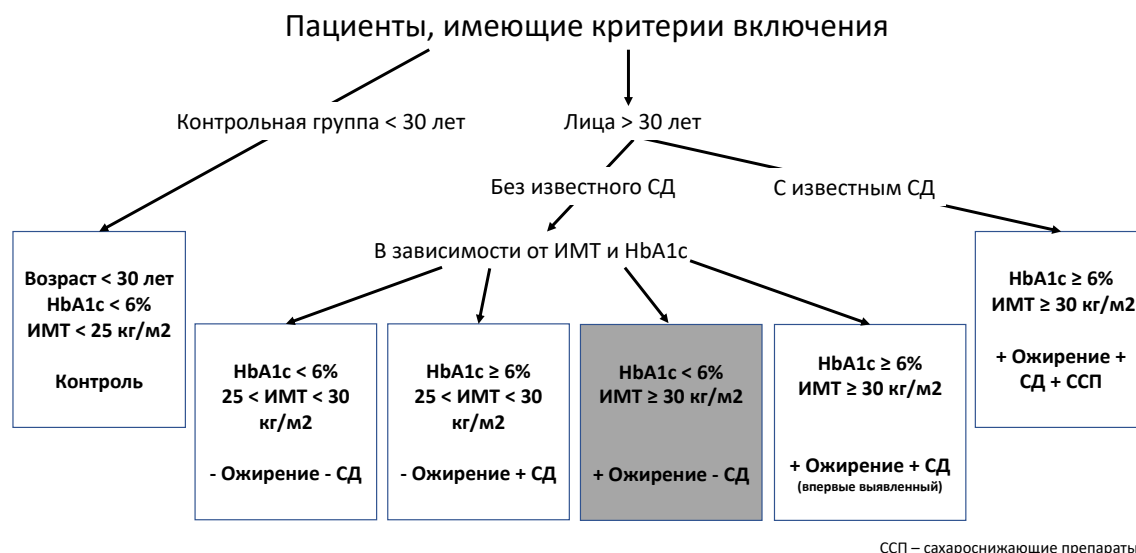


Схема 2. Принцип формирования групп второго этапа исследования

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. До проведения теста все пациенты были информированы о необходимости не соблюдать диету на протяжении как минимум 3-х дней (потреблять 150 г углеводов в сутки) и соблюдать режим обычной физической активности. Проведению теста предшествовало ночное голодание в течение как минимум 8 часов, последний прием пищи содержал 30-50 г углеводов. После забора крови натощак обследованные пациенты выпивали 82,5 г моногидрата глюкозы, растворенного в 250 мл воды.

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). Кровь во всех пробирках была центрифугирована 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 °C для последующего определения ГПП-1 и ГИП.

Во всех трех временных точках ПГТТ/ММТ оценивались уровень глюкозы, иммунореактивного инсулина, ГПП-1, ГИП. Гликированный гемоглобин (HbA1c) и липидный спектр (общий холестерин, липопротеиды низкой плотности (ЛПНП), липопротеиды высокой плотности (ЛПВП), триглицериды) оценивались натощак. Определение в сыворотке крови уровня глюкозы и показателей липидного спектра проводили на биохимическом анализаторе Architect c4000 («Abbott Diagnostics», «Abbott Park», IL, США) стандартными наборами производителя. Гликированный гемоглобин определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на анализаторе D10 (Bio Rad); метод сертифицирован NGSP (The National Glycohemoglobin Standardization Program). Исследование инсулина осуществляли методом усиленной хемилюминесценции на анализаторе COBAS 6000. Суммарный ГПП-1 определяли с помощью иммуноферментного анализа — ИФА (ELISA) наборами компании «BioVendor». Суммарный ГИП исследовали методом ИФА наборами компании «USCN». Данные наборы специфичны по отношению к исследуемому веществу и не демонстрируют перекрестной реактивности ГПП-1/ГПП-2/ГИП/глюкогона/глицентина. Для каждого исследуемого гормонального показателя (ГПП-1, ГИП) рассчитывали площади под кривой.

Расчетные показатели

ИМТ рассчитывался по формуле:

$$\frac{\text{масса тела (кг)}}{\text{рост (см)}^2}$$

Индекс инсулинорезистентности (НОМА-IR) вычислялся по формуле:

$$\frac{\text{глюкоза натощак (ммоль/л)} \times \text{инсулин натощак (мкЕд/мл)}}{22,5}$$

Выделялись пациенты с инсулинорезистентностью при индексе НОМА-IR $\geq 2,7$ [96].

Базальная секреция инсулина была оценена с помощью гомеостатической модели определения функции β -клеток (НОМА-%В).

Индекс НОМА-%В рассчитывался в процентном соотношении по формуле:

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

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:

$$\frac{\text{Инсулин } 30' - \text{инсулин натощак (мкЕд/мл)}}{\text{Глюкоза } 30' - \text{глюкоза натощак (ммоль/л)}}$$

Статистический анализ

Статистическая обработка данных проводилась в аналитической платформе Statistica 13.3. Данные представлялись в виде Me [Q1; Q3]. Первичное сравнение исследуемых показателей проводилось с помощью метода рангового анализа вариаций по Краскелу-Уоллису. При наличии межгрупповых различий ($p < 0,05$) проводилось попарное сравнение с использованием непараметрического теста Манна-Уитни. Проблема множественных сравнений решалась применением поправки Бонферрони с установкой уровня значимости $p < 0,01$. Значение p по умолчанию указано для сравнения показателей группы «+Ожирение -СД» с остальными пятью группами. О сравнении других групп пациентов между собой указано отдельно.

Этап 3. Проспективное исследование

Третий этап работ являлся многоцентровым проспективным сравнительным исследованием и был посвящен тщательному сравнению лиц с равной выраженностью и длительностью ожирения, но различным статусом углеводного обмена: с наличием и отсутствием СД 2. У данных двух групп пациентов проводилось сравнение гормональных, клеточных и генетических факторов, говорящих в влиянии жировой ткани, исходно и проспективно на фоне снижения массы тела после бариатрических вмешательств.

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. ИМТ ≥ 35 кг/м²
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.

Таблица 2. 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 натошак	+	+	+
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 натошак. В ходе исследования пациент вставал босиком на блок анализатора (Body composition analyzer Tanita MC-780MA, TANITA Corporation, Япония). Первично оценивалась масса тела, после чего пациент брал ручки анализатора в обе руки. Полный анализ композиционного состава тела проводился менее чем за 20 сек. 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 пациентов обеих групп выполнялся тест с углеводной нагрузкой с определением уровня гликемии, а также гормональных показателей плазмы крови на 0-й, 30-й и 120-й минутах теста. 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 (методология тестов описана ранее). Во всех трех временных точках ПГТТ/ММТ оценивались уровень глюкозы, иммунореактивного инсулина, глюкагона, ГПП-1, ГИП, глицентина, оксинтомодулина.

Лабораторные методы исследования

Гликированный гемоглобин определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на анализаторе D10 (Bio-Rad). Метод сертифицирован NGSP (The National Glycohemoglobin Standardization Program).

Биохимическое исследование крови: определение в плазме уровня глюкозы; определение в сыворотке крови уровня общего холестерина, холестерина ЛПНП, холестерина ЛПВП, триглицеридов, креатинина проводили на биохимическом анализаторе Architect c4000 (Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL, USA) стандартными наборами фирмы.

Гормональные исследования: определение инсулина проводилось методом электрохемилюминесценции на анализаторе COBAS 6000. Суммарный ГПП-1, глюкагон, глицентин определялись методом ИФА (ELISA) наборами компании Mercodia (Швеция). Суммарный ГИП определялся методом ИФА наборами компании Cloud-Clone Corp (США). Окситомодулин определялся методом ИФА наборами компании Cusabio (США). Данные наборы специфичны по отношению к исследуемому веществу и не демонстрируют перекрестной реактивности. ИФА был проведен с помощью флуориметра VICTOR2 (PerkinElmer, США).

Гиперинсулинемический эугликемический клэмп-тест

Гиперинсулинемический эугликемический клэмп-тест был проведен в день, альтернативный дню проведения теста с углеводной нагрузкой, по классической методике R. DeFronzo [97]. 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. Техника включала в себя внутривенное введение инсулина [инсулин растворимый (человеческий генно-инженерный)] с постоянной скоростью для достижения достаточного уровня гиперинсулинемии (100 мкЕд/мл) и подавления собственной секреции инсулина поджелудочной железой и глюкозы печенью. Одновременно

внутривенно вводился 20%-ный раствор глюкозы (точность введения глюкозы обеспечивалась волюметрическим инфузионным насосом Infusomat fmS; В. Braun, Германия), и с помощью изменения ее скорости поддерживался нормальный уровень гликемии. Скорость инфузии инсулина (точность введения инсулина обеспечивалась инфузионной системой Perfusor compact; В. Braun, Германия) составляла 1 мЕд/кг в минуту. Измерение гликемии проводилось каждые 5–10 мин с помощью госпитального глюкометра OneTouch Verio Pro+ (LifeScan, Швейцария). Для устранения влияния гипергликемии на утилизацию глюкозы использовался нормогликемический (эугликемический) вариант клэмп-теста, целевые значения гликемии были выбраны от 5,1 до 5,6 ммоль/л. При снижении гликемии скорость введения глюкозы увеличивалась, при повышении — снижалась. Примерно через 120–180 мин достигалось динамическое равновесие, т.е. скорость введения глюкозы была равна скорости ее поглощения тканями. После удержания динамического равновесия в течение 30–40 мин инфузию инсулина останавливали, затем скорость инфузии раствора глюкозы увеличивали до достижения глюкозы крови 9–10 ммоль/л с целью предотвращения гипогликемии.

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 [98].

Расчетные показатели

ИМТ, индекс ИР (НОМА-IR), базальная секреция инсулина (НОМА-%В), ИИ рассчитывались по формулам, используемым на этапе 2.

Индекс утилизации глюкозы - индекс, предложенный для оценки способности β -клеток секретировать нужное количество инсулина для преодоления ИР [99]. Для расчета этого показателя у каждого пациента используется формула:

ИИ \times М-индекс.

Прирост глюкагона (1-я фаза секреции глюкагона) был рассчитан по формуле:

$$\frac{\text{Глюкагон } 30' - \text{глюкагон натощак (пмоль/л)}}{\text{Глюкоза } 30' - \text{глюкоза натощак (ммоль/л)}}$$

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.

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 при $p < 0,0005$.

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, лаборатории 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. В операционной образцы помещали в раствор Хэнкса и в течение 3 часов транспортировали в лабораторию при +2°C.

Образцы жировой ткани для гистологического исследования заключались в среду O.C.T.TissueTek (Sakura, Japan) и замораживались в жидком азоте. Полученные образцы хранили при температуре -70°C.

Дополнительно из другой части образцов проводили выделение мезенхимальных стволовых клеток (МСК) жировой ткани энзиматическим методом с использованием диспазы и коллагеназы I типа. В ходе выполнения проекта был разработан оригинальный протокол криоконсервации выделенных МСК пациентов. Клетки замораживали в концентрации 1 млн кл в 1 мл среды для заморозки (10% ДМСО и 90% сыворотки венозной крови донора клеток).

Анализ воспалительных свойств зрелой жировой ткани

Для приготовления криосреза образца жировой ткани пациента замороженный блок нарезали на криотоме Microm (Thermo Scientific, США); толщина среза составляла 9 мкм, шаг между сериями срезов – 200 мкм. Полученные срезы апплицировали на стекла для криосрезов Menzel-Glaser Superfrost (Thermo Scientific, США) и высушивали в течение суток.

Для окрашивания на маркер макрофагов CD68 стекла со срезами нагревали до комнатной температуры, после чего фиксировали в ледяном ацетоне в течение 20 минут при -20°C . Срезы вынимали из ацетона, высушивали под тягой, после чего промывали фосфатно-солевым буфером (ФСБ). Затем осуществляли забивку среза в течение 30 минут при комнатной температуре в растворе 1% БСА на ФСБ в присутствии 10% сыворотки донора вторичных антител. Затем, не отмывая, наносили раствор первичных антител Anti-CD68 antibody [KP1] mouse anti-human (ab955, Abcam, США) и инкубировали срезы 12 часов при $+4^{\circ}\text{C}$. Срезы отмывали в ФСБ. Далее осуществляли окрашивание вторичными антителами Donkey anti-mouse IgG conjugated with Alexa594 (A-21203, Molecular Probes, США). Окрашивание проводили 1 час при комнатной температуре. Затем стекла промывали в растворе DAPI в ФСБ в течение 5 минут и отмывали начисто в ФСБ. Полученные срезы заключали в Aqua PolyMount (#18606, Polysciences, США). Съемку фотографий проводили с использованием флуоресцентного микроскопа Zeiss Axio Observer.A1 (Zeiss, Германия). Съемку проводили на увеличении 630x с использованием иммерсионного масла. Для получения статистически достоверных результатов снимали 4 случайных поля зрения на 4 срезах образца ткани 1 пациента. На полученных фотографиях в программе ImageJ оценивали количество CD68⁺-клеток как отношение числа CD68⁺-клеток к общему числу клеток в поле зрения. Из полученных значений вычисляли среднее для пациента, после чего вычисляли среднее значение по группе пациентов.

Выделение и характеристика МСК подкожной и висцеральной жировой ткани из биоптатов пациентов

Для выделения МСК к образцам жировой ткани добавляли среду DMEM в объеме, не превышающем 1/3 объема ткани. Ткань измельчали до мелких (1-2 мм³) фрагментов, к полученной суспензии добавляли равные объемы растворов коллагеназы I типа (200 ед/мл) и диспазы (30 ед/мл).

Полученную смесь инкубировали в течение одного часа при 37°C и постоянном перемешивании. Затем добавляли равный объем среды DMEM+15%FBS и центрифугировали при 200g в течение 10 минут. Две верхние фракции (фрагменты ткани с адипоцитами и среда с ферментами) отбирали, осадок ресуспендировали в среде DMEM+10%FBS, фильтровали через нейлоновые фильтры с диаметром пор 40 мкм. Отфильтрованную суспензию центрифугировали при 200g в течение 10 минут. Супернатант удаляли, а осадок ресуспендировали в среде Advance STEM Mesenchymal Stem Cell, содержащей 10% Advance Stem Cell Growth Supplement, 100 ед/мл пенициллина и 100 ед/мл стрептомицина. Выделенные клетки высаживали на чашки Петри из расчета 5 мл суспензии измельченной жировой ткани на культуральную чашку (диаметр 10 см). Через 48 часов отмывали чашки от не прикрепившихся клеток и эритроцитов, добавляли свежую культуральную среду.

В ходе выполнения проекта разработан оригинальный протокол заморозки и сохранения выделенных МСК пациентов. Клетки замораживали в концентрации 1 млн кл. в 1 мл среды для заморозки. Состав среды для заморозки – 10% безводного DMSO и 90% сыворотки крови донора клеток. Суспензию клеток в среде для заморозки с концентрацией 1 млн/мл переносили в ампулы для заморозки, плотно и стерильно их закрывали, маркировали. Ампулы для заморозки заворачивали в вату и инкубировали в пенопластовом коробе в течение 7 дней при -70°C. Спустя неделю можно переносили клетки в хранилище для клеток с жидким азотом.

Полученные культуры МСК висцеральной и подкожной жировых тканей характеризовали для подтверждения мезенхимального фенотипа. Для характеристики мезенхимального фенотипа оценивали способность выделенных МСК к дифференцировкам в адипогенном и остеогенном направлениях. Для индукции адипогенной дифференцировки использовали среды с инсулином, дексаметазоном и изобутилметилксантином. Оценку дифференцировки проводили по окрашиванию красителем OilRedO. Для

индукции остеогенной дифференцировки использовали среды с дексаметазоном, β -глицерофосфатом и аскорбил фосфатом магния. Оценку дифференцировки проводили по окрашиванию красителем AlizarinRedS.

Для характеристики мезенхимального фенотипа также выполняли характеристику иммунофенотипа выделенных МСК. Окрашивание выполняли в 100 мкл суспензии МСК жировой ткани в концентрации $1-10 \times 10^6$ клеток/мл на ФСБ. Предварительно в каждую из пробирок вносили соответствующие флуоресцентно меченые моноклональные мышинные антитела против человеческих антигенов в конечной концентрации 10 мкг/мл. Клетки фиксировали в 2% р-ре формальдегида.

Анализ пролиферативной активности МСК жировой ткани

На полученной культуре МСК жировых тканей пациентов проводили анализ пролиферации методом МТТ в ответ на добавление FBS. Для использования в эксперименте брали 2 образца суспензии МСК жировой ткани: в среде с 10% FBS и в бессывороточной среде. МТТ проводили в формате 96 луночного планшета (100 мкл суспензии в лунку), соответственно количество клеток на лунку для оценки пролиферации составляло 5000. Также для преобразования измерений абсорбции в эквивалентные количества клеток была построена калибровочная кривая, построенная на основе 6 серийных разведений в диапазоне 620-20000 клеток на лунку. В эксперименте использовалось 4 планшета с одинаковым нанесением, но разным временем инкубации: 24 часа, 48 часов, 72 часа и 96 часов. Смену среды осуществляли на 2 сутки инкубации в планшетах на 72 часа и 96 часов. Пролиферацию клеток оценивали после добавки 20 мкл 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолийбромида (2,5 мг/мл), с последующей инкубацией в течение 4 часов. Образовавшиеся кристаллы формазана солюбилизировали добавлением 0,1 N HCl в изопропанол (100 мкл на лунку) при комнатной температуре в течение 10 мин. Поглощение измеряли при длине волны 595 нм (фильтр сравнения 620 нм) с использованием планшетного фотометра

Multiscan Microplate Reader (Labsystems, США), с последующим расчетом количества клеток в лунке.

Анализ адипогенной дифференцировки МСК жировой ткани

Была проведена оценка способности выделенных МСК к адипоцитарной дифференцировке с использованием количественной оценки (измерение экспрессии мРНК генов-маркеров адипогенеза методом ПЦР в реальном времени).

Для оценки адипогенной дифференцировки МСК жировой ткани человека, культивируемые в стандартных условиях, рассеивали в формате 12-луночного культурального планшета, и доводили до конfluence 90-100%. Затем проводили адипоцитарную дифференцировку методом непрерывного культивирования клеток в течение 21 дня на среде DMEM HG + 10% FBS + 0.5 мМ изобутилметилксантина + 0.25 мкМ дексаметазона + 2 мкМ розиглитазона + 1 мкг/мл инсулина. На 21 день клетки каждого типа лизировали в RLT буфере в 2 лунках, собирали, выделяли РНК с использованием набора RNEasy Maxi Kit (Qiagen, США), синтезировали кДНК с использованием набора RevertAid H Minus First Strand cDNA («ThermoScientific», США). Для оценки адипогенной дифференцировки проводили ПЦР в реальном времени на ряд генов-маркеров адипоцитов: *GLUT4*, *PPARgamma*, *FABP4*.

Анализ транскриптома жировой ткани

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). Для предотвращения деградации в выделенную РНК добавляли 1 ед. RiboLock RNase Inhibitor («Thermo Fisher Scientific», США) на 1 мкл раствора

нуклеиновых кислот. 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 по следующей программе: 250С/10 минут, 370С/120 минут, 850С/5 минут. 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.

Анализ экспрессии генов, участвующих в регуляции углеводного обмена, проводили с помощью ПЦР «в реальном времени». Для ПЦР «в реальном времени» использовали термоциклер StepOnePlus (Applied Biosystems, USA). В смесь для ПЦР добавляли TaqMan Fast Universal PCR MasterMix (Applied Biosystems, USA), которую раскапывали в 96-луночную плашку Custom TaqMan Array 48 Plus Plates с лиофилизированными праймерами и флуоресцентными зондами, праймеры были подобраны таким образом, чтобы анализировать как можно большее количество изоформ альтернативных транскриптов. Общий объем ПЦР реакции составлял 20 мкл. Условия амплификации фрагментов ДНК: 500С/2 мин – 1 цикл, 950С/20 сек – 1 цикл ; 950С/1 сек, 950С/20 сек – 40 циклов. В качестве контроля выделения и обратной транскрипции использовался ген, кодирующий рРНК 18S малой субъединицы рибосомы.

Список изучаемых генов: WNT10B, WNT10A, WNT6, LPL, PPARG, MMP3, MMP9, SSP1, LEP, DLK5, GATA3, ADIPOQ, CFD, ACC1, HSL, FABP4, NDRG4, GINS3, FGF10, MMP2, TWIST2, ITGB2, PCBP3, ACP5, TUBB2B. В последующем 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.

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.

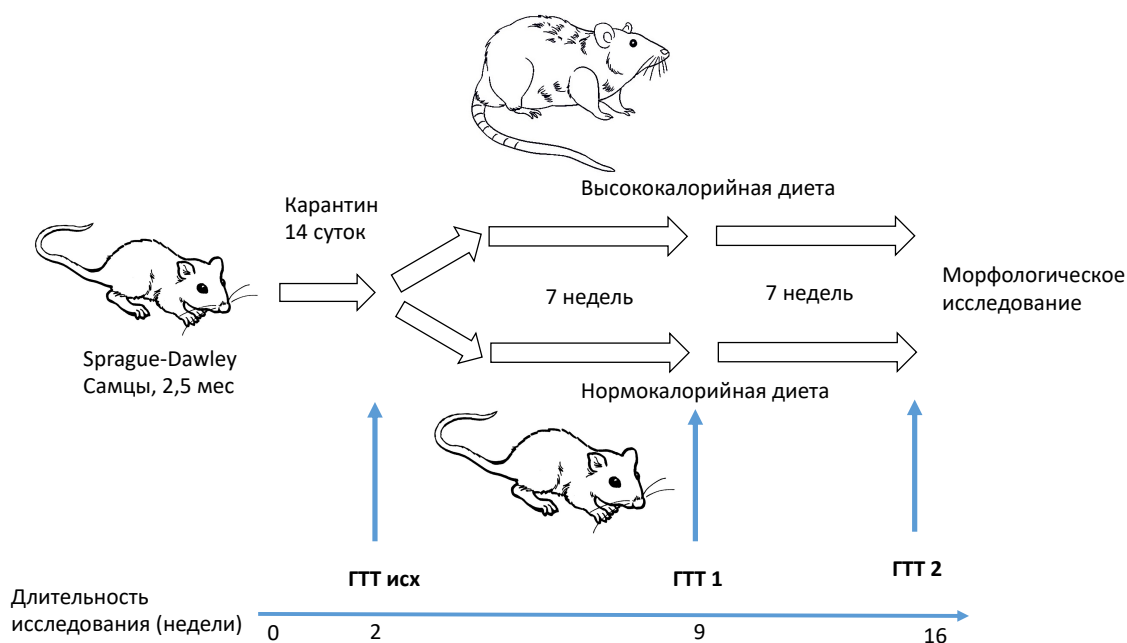


Схема 3. Дизайн экспериментального этапа исследования

ГТТ – глюкозотолерантный тест

Эксперимент проводился на крысах-самцах линии Sprague Dawley (n=20), полученных из питомника лабораторных животных «Пушино» в возрасте 2.5 месяцев. Крысы были адаптированы в виварии в отдельном помещении в течение 14 дней до начала эксперимента. В этот период осуществлялся ежедневный внешний осмотр и оценка состояния животных (карантин). Животные с обнаруженными в ходе осмотра отклонениями в экспериментальные группы не включались. 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 производства ООО «Лабораторкорм», из расчета 5 граммов на 100г веса животного в сутки. 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.

Первый вариант обогащения состоял из кормосмеси, содержащей 10г белков, 60г жиров, 134г углеводов на 200г смеси, которую животные опытной группы получали в сутки. Дополнительно животные получали 10% раствор фруктозы в качестве питья.

Второй вариант обогащенного рациона представлял собой кормосмесь, содержащую белков – 18г; жиров – 95г; углеводов – 105г на 380г, которую опытная группа крыс получала в сутки. Питье – фильтрованная вода.

Третий вариант обогащения по углеводам и жирам представлял собой кормосмесь, содержащую белков – 18,54г, жиров – 97,05г, углеводов – 132,72г на 330г, которую опытная группа крыс получала в сутки. Питье – фильтрованная вода.

Продолжительность применения каждого обогащения составляла 30-35 дней, не считая праздничных и выходных дней в период проведения эксперимента.

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 внутривенно в дозе 1,5 мг/ кг после 8-10 часовой пищевой и питьевой депривации. Во время проведения каждого ГТТ осуществляли забор крови из хвостовой вены крыс. Для ограничения подвижности животным вводили золетил в дозе 13 мг/кг и размещали их в индивидуальных пеналах. Измерение уровня глюкозы в крови животных проводили с помощью глюкометра «Сателлит экспресс» до введения глюкозы и спустя 10, 30, 60 и 120 минут. Кровь для гормональных исследований забирали инсулиновым шприцем, предварительно обработанным раствором гепарина натрия, до введения глюкозы, спустя 30, 60 и 120 минут по 500 мкл в каждой точке. Образец крови помещали в микроветту на 500 мкл с наполнителем «Калий 3-ЭДТА» и с добавлением аprotинина, центрифугировали в течение 15 мин при 4000 об/мин, плазму отбирали микропипеткой и сразу же помещали в холодильник (-70°C).

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.

Статистическая обработка данных проводилась аналогично этапу 3. Статистически значимым признавали уровень ошибки первого рода менее 5% ($p < 0,05$).

Содержание животных

Животные содержались в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986).

Животные содержались в виварии института при 12 часовом чередовании суточной освещенности. При формировании экспериментальных групп каждому животному был присвоен индивидуальный номер, обозначенный на хвосте нетоксичным красителем. Нумерация животных проводилась от 1 до 32. На карточке клетки, в которой содержатся животные, была указана следующая информация: номера животных и название группы («Контроль» (нормокалорийная) и «Диета» (высококалорийная)).

Крысы были размещены по 5-6 голов в клетках (каркас из поликарбоната 480x375x210мм 1500U001, крышка клетки из нержавеющей стали 1400U116). В качестве подстилки в клетках использовался материал RENOFIX (Rettenmaier & Sohne, Germany), а также подстилочный материал из лиственных пород деревьев, стружка обеспыленная мелкая в соответствии с нормами размещения. Подстилочный материал исследован на микробиологические показатели, пестициды (хлор) и токсичные элементы (свинец, кадмий, ртуть, мышьяк). Животные содержались при температуре воздуха в виварии 21-24°C, относительной влажности – 30-70%, световом режиме – 12:12 ч. Определяемый датчиком диапазон значений концентрации летучих веществ (аммиак, оксид углерода - 0,4-1 мг/м³). Животные обеспечивались кормом в соответствии с условиями эксперимента.

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/MS/ 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).

Эвтаназия

Эвтаназия (безболезненное умерщвление животных) производилась ответственным лицом в соответствии с требованиями, принятыми в институте, путем введения летальной дозы этаминала натрия. Эвтаназия осуществлялась своевременно по окончании экспериментов, без причинения страданий, в помещении, где не содержатся другие животные. Была осуществлена биопсия подкожной и висцеральной (сальниковой) жировой ткани, печени, поджелудочной железы. Уборка трупов крыс производилась только после того, как смерть была констатирована ответственным лицом.

В случае преждевременной гибели животных был произведен их визуальный осмотр с определением возможных причин гибели.

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 O.C.T (Tissue Tek). Срезы толщиной 15-20 мкм готовили на криостате Sakura Tissue Tek Cryo 3, монтировали на покрытые желатином стекла, после высыхания помещали на 5 минут в пропиленгликоль, после чего окрашивали 15 минут в 0,5% растворе масляного красного в пропиленгликоле, предварительно нагретом до 45-50 °С. Окраску дифференцировали в двух сменах 85% пропиленгликоля, по 2 минуты. Срезы промывали водой, подкрашивали гематоксилином Гарриса и заключали под покровные стекла в желатин-глицерин.

Часть образцов жировой ткани использовали для выявления макрофагов иммунофлуоресцентным методом. После тепловой демаскировки в пароварке (15 минут) в щелочном Трис-ЭДТА буфере (Nordic Biosite, Antigen

retrieval solution, pH=9.0) срезы инкубировали с моноклональными кроличьими антителами (Abcam) к белку IVA1 - 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-u 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.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 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). Доля пациентов с СД 2 составила 24% от общего числа пациентов изучаемой выборки.

3.1.1 Анализ влияния анамнестических, антропометрических показателей, а также характеристик образа жизни на риск развития СД 2 при ожирении

В таблице 3 представлены характеристики пациентов с СД 2 и отсутствием нарушений углеводного обмена.

Таблица 3. 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]	170	40 [33; 48]	524	0,000000

	min=21, max=71		min=18, max=75		
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.

Пациенты изучаемых групп были сопоставимы по полу, однако, по возрасту группы различались: лица без нарушений углеводного обмена были моложе пациентов с СД 2, в том числе при оценке в последней группе возраста на момент наступления СД 2 (40 [33; 48] лет у лиц без СД 2 против 45 [38; 51] лет у пациентов с СД 2). Распространенность СД 2 ожидаемо возрастала с увеличением возраста пациентов ($\chi^2=23,9$, $p=0,00003$) (рис. 1).

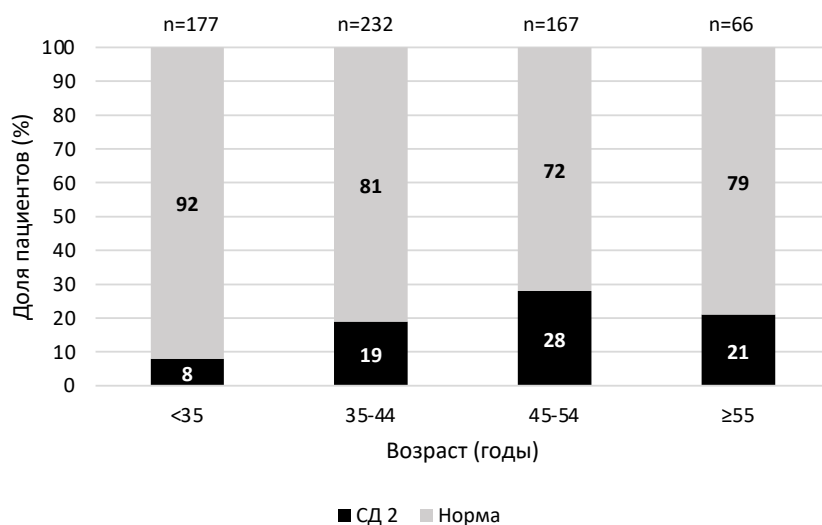


Рисунок 1. Доли пациентов с СД 2 и без нарушений углеводного обмена

(«норма») у лиц разного возраста (у пациентов с СД 2 возраст указан на момент дебюта СД 2).

Примечание (здесь и далее в рисунках раздела 3.1.): над столбцами указано абсолютное число пациентов в каждой группе

В исследовании две группы пациентов сравнивались по различным параметрам, характеризующим выраженность ожирения. Текущий ИМТ не отличался у пациентов с и без СД 2. Более того, распространенность СД 2 в выбранной когорте пациентов не зависела от степени ожирения ($\chi^2=3,57$, $p=0,311$): при разделении пациентов на подгруппы с различным ИМТ частота встречаемости СД 2 значимо не различалась и находилась в диапазоне 21-28% (рис. 2).

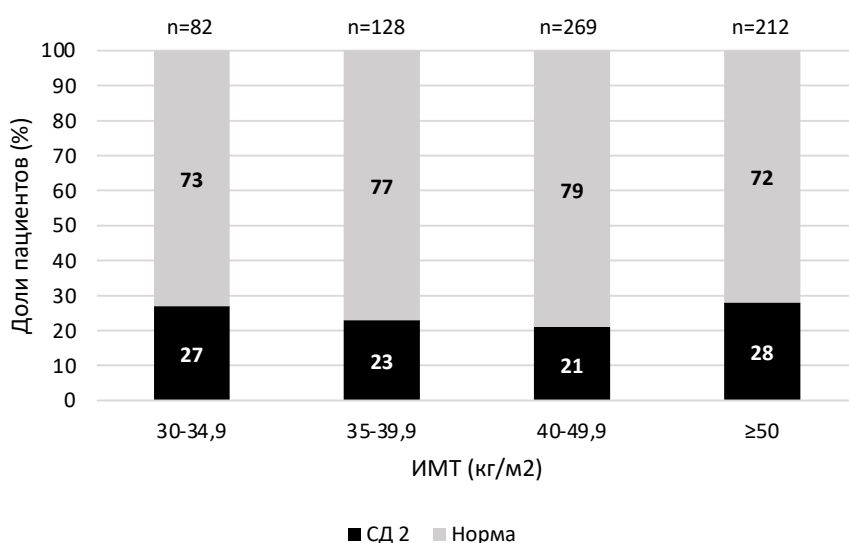


Рисунок 2. Доли пациентов с СД 2 и без нарушений углеводного обмена («норма») у лиц с различным ИМТ.

В нашей работе также была проанализирована распространенность СД 2 в зависимости от других характеристик ожирения. Так, в анкете пациенты указывали значение максимальной массы тела, на основании которого было рассчитано значение пикового ИМТ. Значение пикового ИМТ было сопоставимо в группах пациентов с и без СД 2. Также доля пациентов с СД 2

значимо не отличалась при разделении участников исследования в зависимости от величины пикового ИМТ ($\chi^2=1,88$, $p=0,597$) (рис. 3).

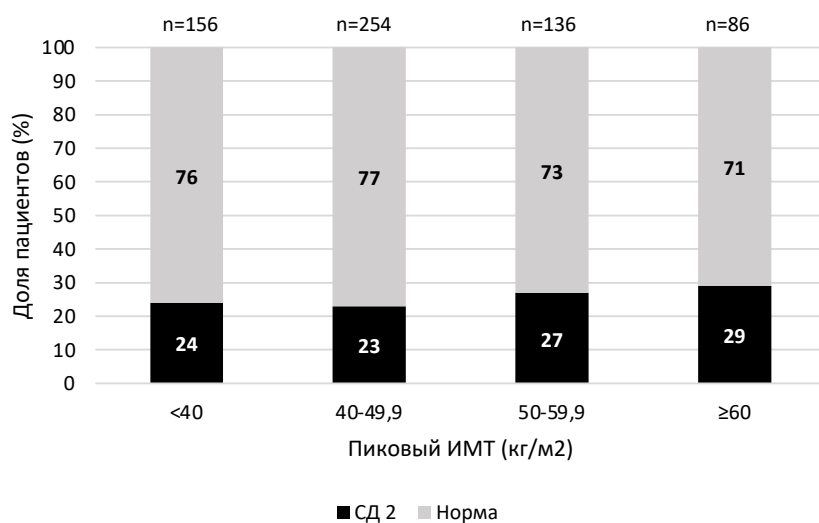


Рисунок 3. Доли пациентов с СД 2 и без нарушений углеводного обмена («норма») у лиц с различным пиковым ИМТ.

У пациентов обеих групп был рассчитан показатель, отражающий содержание излишней массы тела (процента превышения массы тела относительно ИМТ=25 кг/м² для каждого пациента). Медианное содержание излишней массы тела в общей выборке составило 43,4% [34,4; 51,9] или 54,9 кг [36,9; 79,4]. Распределение пациентов с различными нарушениями углеводного обмена не зависело от содержания излишней массы тела ($\chi^2=3,29$, $p=0,193$) и было сопоставимым в группах пациентов с небольшим (<30%), умеренным (30-50%) и большим (>50%) количеством излишней массы тела (рис. 4).

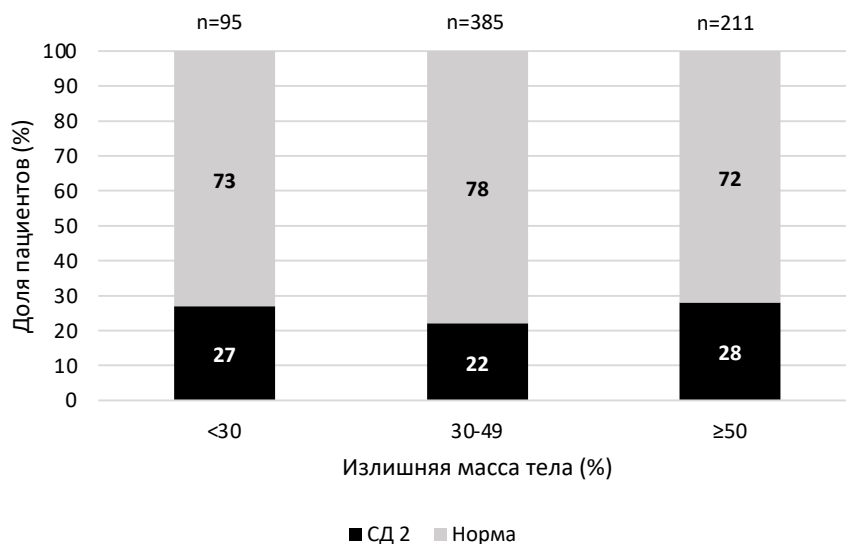


Рисунок 4. Доли пациентов с СД 2 и без нарушений углеводного обмена («норма») у лиц с различным содержанием излишней массы тела.

Еще одним показателем, от которого могла зависеть частота встречаемости СД 2 – это длительность избыточной массы тела и ожирения. По параметру длительности ожирения до момента наступления СД 2 группы пациентов значимо не различались. При разделении пациентов на подгруппы по данному параметру мы обнаружили, что даже при анамнезе ожирения более 30 лет 84,2% пациентов не сообщали о наличии нарушений углеводного обмена, более того, имелась статистическая тенденция к снижению доли лиц с СД 2 с увеличением длительности избыточного веса или ожирения ($\chi^2=9,24$, $p=0,026$) (рис. 5).

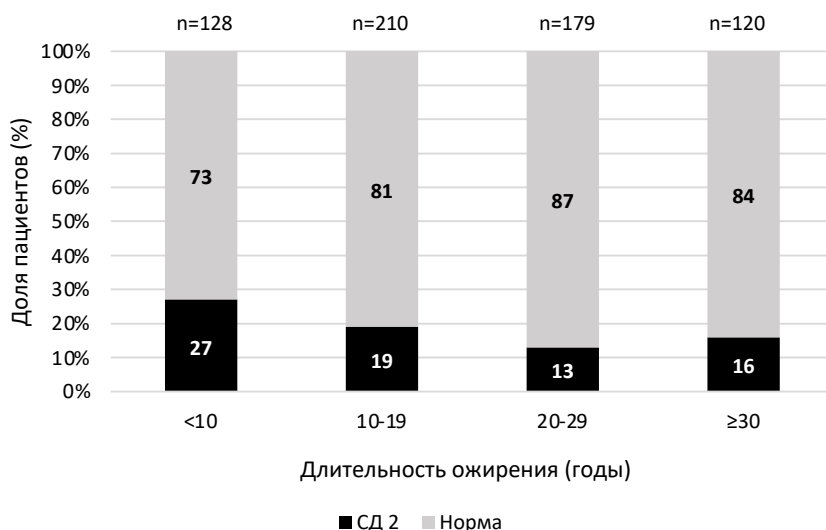


Рисунок 5. Доли пациентов с СД 2 и без нарушений углеводного обмена («норма») при различной длительности избыточного веса или ожирения.

Фактором, отличающим группы пациентов с и без СД 2 в нашем исследовании, являлся возраст дебюта ожирения. При этом парадоксально лица без нарушений углеводного обмена отмечали старт увеличения массы тела в более молодом возрасте, тогда как пациенты с СД 2 сообщали о дебюте избыточной массы тела или ожирения в более старшем возрасте. Также лица без СД 2 чаще указывали на наличие у них ожирения в детском и подростковом возрасте. При разделении пациентов на подгруппы по указанному возрасту дебюта ожирения отмечалось статистически значимое увеличение доли пациентов с СД 2 при дебюте ожирения в более позднем возрасте ($\chi^2=15,9$, $p=0,00035$) (рис. 6).

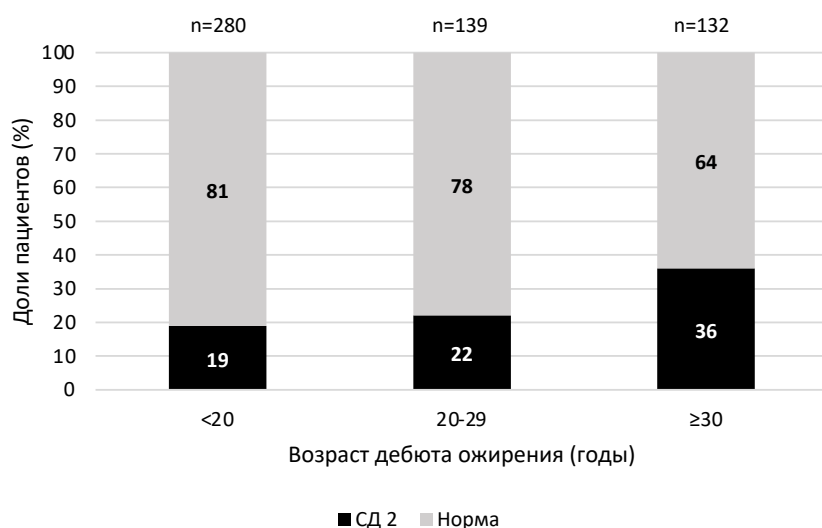


Рисунок 6. Доли пациентов с СД 2 и без нарушений углеводного обмена («норма») у лиц с различным возрастом дебюта ожирения или избыточной массы тела.

При этом пациенты без СД 2 чаще сообщали, что пришли к максимальному весу в течение периода от нескольких месяцев до 1 года до консультации у бариатрического хирурга. По этому показателю они статистически значимо отличались от пациентов с СД 2, которые в половине случаев говорили о достижении максимального веса ≥ 1 года назад. Иными словами, на момент консультации бариатрического хирурга лица без нарушений углеводного обмена чаще демонстрировали свой максимальный вес, тогда как пациенты с СД 2 уже проходили пик массы тела ранее и оказывались на консультации у бариатрического хирурга после попыток снижения массы тела (рис. 7). Таким образом, в исследуемой выборке пациентов лица с СД 2 заболевали ожирением позже, однако за более короткий срок достигали максимального ИМТ.

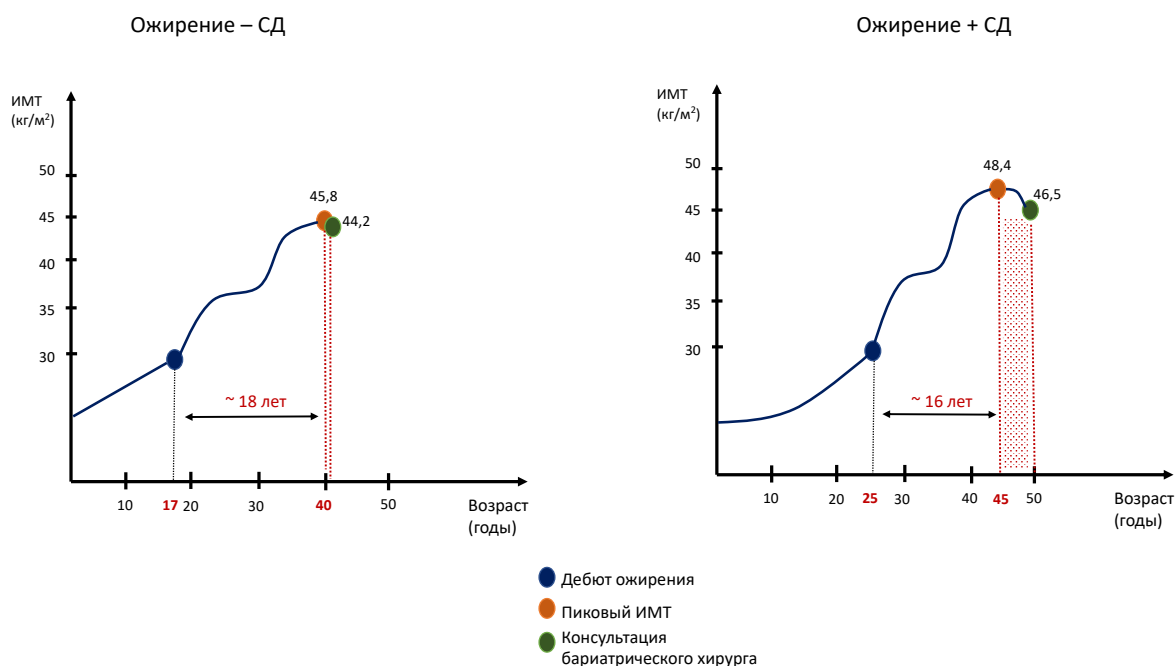


Рисунок 7. Схематическое представление различий в возрасте дебюта ожирения, длительности ожирения, а также времени от достижения максимальной массы тела до консультации бариатрического хирурга у пациентов без нарушений углеводного обмена и с СД 2

Примечание: красным цветом обозначены межгрупповые статистически значимые различия

3.1.2 Анализ влияния сопутствующих заболеваний на риск развития СД 2 при ожирении

Частоты сопутствующих заболеваний и состояний в двух группах представлены в таблице 4. Поскольку группы существенно (на 10 лет по медианам) различались по возрасту, для их сравнения выполнен анализ с учетом возраста (но без учета времени наступления этих событий, т.к. оно не фиксировалось при опросе пациента).

Таблица 4. Частоты заболеваний у пациентов с СД 2 типа и пациентов с нормальным углеводным обменом на фоне ожирения

	Известный СД 2 + ожирение		Нормальный углеводный обмен + ожирение		Р, лог-ранговый тест
	Описательная статистика	N	Описательная статистика	N	
Артериальная гипертензия, возраст*	139 (81,8%) 51 [45; 58]	170	290 (55%) 47 [39; 54]	429	0,00024
Длительность анамнеза АГ	10 [6; 17]	83	9 [4; 15]	140	0,052699 U-test
Максимальные значения АД		130		270	0,00748 X ²
< 140/90 мм рт. ст.	29 (22,3%)		88 (32,6%)		
< 160/100 мм рт. ст.	37 (28,5%)		92 (34,1%)		
< 180/110 мм рт. ст.	64 (49,2%)		90 (33,3%)		
ИБС/ИМ	51 (32,9%)	155	51 (10,9%)	469	0,202
СОАС	80 (47,6%)	168	150 (28,6%)	524	0,036
Венозная недостаточность	62 (38%)	163	141 (27,6%)	511	0,002
ЖКБ	51 (30,4%)	168	92 (17,6%)	524	0,058
МКБ	45 (26,8%)	168	55 (10,6%)	519	0,224
ГЭРБ, возраст*	47 (28,3%) 63 [53; ---]	166	184 (35%) 54 [41; 63]	526	0,00000
Язвенная болезнь желудка и 12-п кишки	16 (9,6%)	167	48 (9,3%)	519	0,002
Недержание мочи	48 (29,6%)	162	112 (22,1%)	507	0,0013
Нарушения менструального цикла у женщин	29 (32,2%)	90	108 (33,3%)	324	0,006
Бесплодие у женщин	31 (31%)	100	59 (16,5%)	358	0,423
Хроническая боль в спине, возраст*	119 (71,3%) 52 [46; 59]	167	392 (74,4%) 43 [35; 52]	527	0,00000
Грыжи брюшной стенки	27 (16,9%)	160	58 (11,6%)	499	0,038

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. *Возраст, к которому 50% [25%; 75%] пациентов имели данную патологию.

Результаты показывают, что в относительная частота АГ в группе пациентов с ожирением и СД 2 была больше, чем в группе пациентов без СД 2, однако при учете возраста обнаружилось, что АГ диагностировалась у пациентов с ожирением и СД 2 статистически значимо позже, чем у лиц без нарушений углеводного обмена. Также пациенты с СД 2 реже страдали ГЭРБ и предъявляли жалобы на хроническую боль в спине, чем лица без СД2. По остальным заболеваниям и состояниям различий групп не выявлено.

Попарный анализ

Для устранения влияния возраста как одного из наиболее значимых факторов риска развития нарушений углеводного обмена из общей базы данных были выделены пары пациентов, подобранные по полу и возрасту (возраст для группы пациентов с известным СД 2 определялся на момент постановки диагноза СД 2). Антропометрические и анамнестические показатели пар представлены в таблице 5.

Таблица 5. Демографические характеристики и особенности образа жизни пациентов с известным СД 2 типа и с нормальным углеводным обменом (109 пар)

	Известный СД 2 (n=109)	N пациентов с признаком	Отсутствие нарушений углеводного обмена (n=109)	N пациентов с признаком	p
Пол муж (n, %)	38 (34,9%)	109	38 (34,9%)	109	-
Возраст*, годы	44 [37; 50]	109	44 [37; 50]	109	-
Длительность ожирения**, годы	15 [8; 25]	108	20 [14; 32]	108	0,003252
ИМТ (кг/м ²)	45 [37,2; 50,8]	109	44,3 [38,6; 52,7]	108	0,828916
Избыточная масса тела (%)	44,5 [32,8; 50,8]	109	44,2 [35,4; 52,9]	107	0,910912

Наличие ожирения в детском возрасте (n, %)	33 (30,3%)	109	52 (47,7%)	109	<0,007802
Возраст дебюта ожирения	27 [14; 37]	82	16,5 [9; 29]	82	0,000130
Пиковый ИМТ (кг/м ²)	47,3 [38,5; 54,7]	101	47,1 [39,4; 53,5]	97	0,889595
Наличие семейного анамнеза ожирения (n, %)	75 [68,8%]	107	66 (60,6%)	103	<0,405381
Максимальный вес достигнут в течение последнего года (n, %)	47 (43,1%)	101	71 (65,1%)	98	<0,000689
Частое употребление сладостей (n, %)	37 (33,9%)	106	44 (40,4%)	107	<0,326990
Частое употребление жирных продуктов (n, %)	69 (63,3%)	102	71 (65,1%)	99	<0,516413
Преимущественный прием пищи в вечернее время (n, %)	23 (21,1%)	92	22 (20,2%)	100	<0,841481
Частота приемов пищи (n, %)		105		107	<0,205904
1-2 раза в день	14 (12,8%)		17 (15,6%)		
3 раза в день	41 (37,6%)		38 (34,9%)		
4-5 раз в день	35 (32,1%)		35 (32,1%)		
> 5 раз в день	15 (13,8%)		17 (15,6%)		
Наличие попыток к снижению массы тела (n, %)	91 (83,5%)	106	100 (91,7%)	106	<0,038948
Курение (n, %)	28 (25,7%)	108	37 (33,9%)	108	<0,122824

Примечание: использован критерий Вилкоксона для количественных признаков, критерий Кокрана для качественных признаков

При исключении влияния возраста пациентов между группами с наличием и отсутствием СД 2 сохранялись различия в возрасте дебюта ожирения и периоде достижения максимального веса. Помимо этого,

сохранялась парадоксальная тенденция к большей длительности ожирения у пациентов без нарушений углеводного обмена по сравнению с лицами СД 2, не достигшая статистической значимости.

При попарном анализе не претерпели значимых изменений различия в спектре сопутствующей кардиальной патологии между пациентами без нарушений углеводного обмена и с СД 2 (таблица 6).

Таблица 6. Частоты заболеваний у пациентов с СД 2 типа и пациентов с нормальным углеводным обменом на фоне ожирения (109 пар)

Сопутствующие заболевания (n,%)	Известный СД 2	N пациентов с признаком	Отсутствие нарушений углеводного обмена	N пациентов с признаком	p
Артериальная гипертензия	88 (80,7%)	109	65 (59,6%)	109	<0,000794
Длительность анамнеза АГ	10 [6; 17]	59	10 [4; 20]	29	0,493902
Максимальные значения АД		83		60	<0,157300
< 140/90 мм рт. ст.	14 (12,8%)		19 (17,4%)		
< 160/100 мм рт. ст.	23 (21,1%)		21 (19,3%)		
< 180/110 мм рт. ст.	46 (42,2%)		20 (18,3%)		
ИБС/ИМ	38 (34,9%)	103	12 (11%)	96	<0,000386
СОАС	52 (47,7%)	109	30 (27,5%)	106	<0,001496
Венозная недостаточность	37 (33,9%)	106	38 (34,9%)	103	<0,680280
ЖКБ	34 (31,2%)	107	25 (22,9%)	108	<0,128191
МКБ	28 (25,7%)	108	12 (11%)	106	<0,011230
ГЭРБ	33 (30,3%)	107	34 (31,2%)	109	<1,0
Язвенная болезнь желудка и 12-п кишки	12 (11%)	106	16 (14,7%)	106	<0,432768
Недержание мочи	32 (29,4%)	103	26 (23,9%)	103	<0,354540

Нарушения менструального цикла у женщин	17 (15,6%)	66	15 (13,8%)	71	<0,225254
Бесплодие у женщин	22 (20,2%)	67	13 (11,9%)	73	<0,020137
Боль в позвоночнике	73 (67%)	107	79 (72,5%)	109	<0,423340
Грыжи брюшной стенки	18 (16,5%)	104	9 (8,3%)	102	<0,126631

Примечание: представлены абсолютные и относительные (%) частоты признаков, использован критерий Кокрана для качественных признаков

3.1.3 Резюме основного результата 1 этапа исследования

В нашем исследовании большая доля пациентов, имевших длительный анамнез ожирения, в том числе морбидного, не сообщала о наличии СД 2, что свидетельствует в пользу существования особого фенотипа ожирения, характеризующегося меньшим риском развития нарушений углеводного обмена.

В исследовании проводилась оценка анамнестических характеристик, которые могли бы указывать на больший или меньший риск развития СД 2 у лиц с ожирением. К этим характеристикам относились наличие семейного анамнеза ожирения, попыток снижения массы тела и ряд поведенческих особенностей и пищевых привычек, таких как кратность и преимущественное время приема пищи, вкусовые предпочтения сладкой или жирной пищи, статус курения. По данным признакам группы пациентов с и без СД 2 в нашем исследовании не отличались.

Пациенты с ожирением без нарушений углеводного обмена были моложе, чем пациенты с СД 2 в момент постановки им данного диагноза, а также отличались более ранним стартом ожирения по сравнению с лицами с СД 2. В отличие от пациентов с СД 2, прошедших пик увеличения массы тела

за год и более до анкетирования, пациенты без нарушений углеводного обмена достигали максимальной массы тела на момент анкетирования. Пациенты с СД 2 реже страдали АГ, ГЭРБ и указывали на наличие хронической боли в спине. Длительность ожирения и особенности образа жизни значимо не отличались у пациентов двух групп.

3.2 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.

Две группы пациентов (контрольная и с СД 2) определялись сразу в соответствии с критериями включения:

- Контрольная группа пациентов без нарушений углеводного обмена (HbA1c < 6%) и с ИМТ менее 25 кг/м² в возрасте менее 30 лет, n=18 (**контроль**)
- Группа пациентов с известным СД 2, получающих сахароснижающие препараты (ИМТ ≥30 кг/м²), n=42 (**+ ожирение + СД + ССП**)

Включенные пациенты с избыточной массой тела и ожирением без известных нарушений углеводного обмена были разделены на 4 группы в зависимости от ИМТ и результатов измерения HbA1c (в скобках указаны названия групп, используемые далее; в кратком обозначении названий групп слово «предиабет» опускалось):

- Группа пациентов с ожирением без нарушений углеводного обмена (ИМТ ≥30 кг/м², уровень HbA1c < 6%), n=45 (**+ ожирение - СД**)
- Группа пациентов с ожирением и впервые выявленным СД 2 типа/ предиабетом (ИМТ ≥30 кг/м², уровень HbA1c ≥ 6%), n=47 (**+ ожирение + СД**)
- Группа пациентов с избыточной массой тела без нарушений углеводного обмена (25 ≤ ИМТ < 30 кг/м², уровень HbA1c < 6%), n=26 (**- ожирение - СД**)
- Группа пациентов с избыточной массой тела и впервые выявленным СД 2 типа/ предиабетом (25 ≤ ИМТ < 30 кг/м², уровень HbA1c ≥ 6%), n=34 (**- ожирение + СД**):

Антропометрические характеристики включенных пациентов и HbA1c представлены в таблице 7.

Таблица 7. Антропометрические характеристики включенных пациентов

(данные представлены в виде Me [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)
НbA1c (%)	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)

Группа «+Ожирение -СД» была несколько моложе группы пациентов групп «-Ожирение + СД» и «+Ожирение +СД», что могло повлиять на интерпретацию результатов исследования. Поэтому оценка влияния возраста на исследуемые параметры будет представлена в отдельном разделе. Значимые отличия группы «+Ожирение -СД» от контрольной группы ожидаемы и обусловлены особенностями выборки контрольной группы.

В исследуемых группах проводилась диагностика преимущественного типа ожирения (висцеральное/ подкожное) на основании двух показателей: ОТ и соотношения ОТ/ОБ. На рисунке 8 представлены различия данных показателей во всех группах.

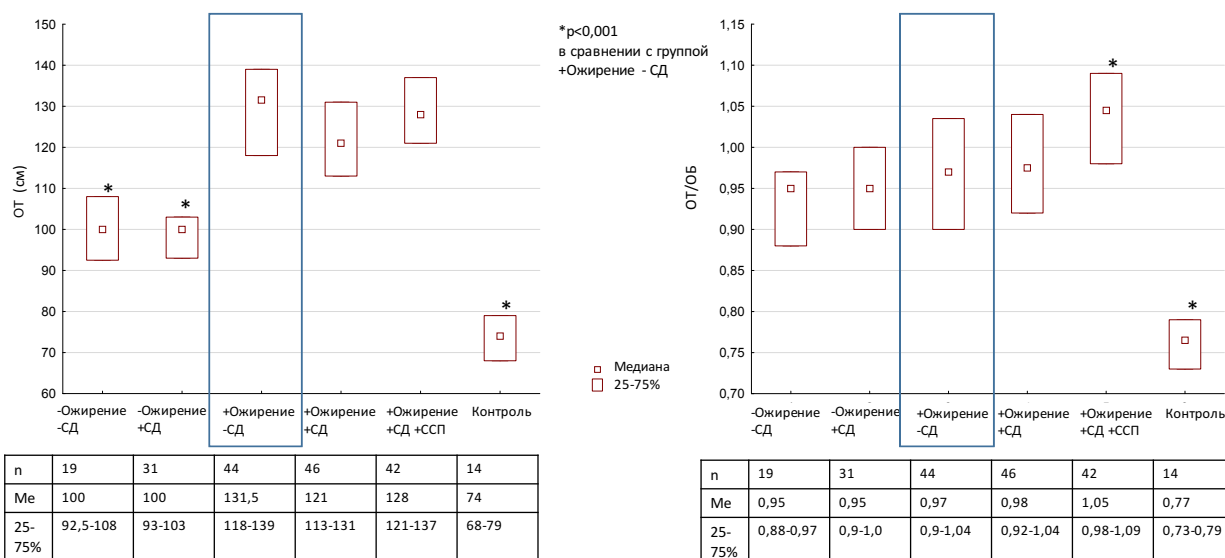


Рисунок 8. Сравнение показателей ОТ и ОТ/ОБ в исследуемых группах

Примечание (здесь и далее в разделе 3.2.): статистические различия указаны для группы «+Ожирение -СД» в сравнении с остальными группами. Данные представлены в виде в виде Me [25; 75]; n- число проведенных измерений

Показатель ОТ был значимо выше у всех пациентов с ожирением вне зависимости от наличия нарушений углеводного обмена по сравнению с лицами без ожирения. Соотношение ОТ/ОБ было сопоставимо в группах пациентов с ожирением и без ожирения, значимо отличался этот показатель только у контрольной группы и группы «+Ожирение +СД +ССП». Иными словами, в нашем исследовании показатель ОТ/ОБ не позволял дифференцировать пациентов с разными метаболическими рисками.

В рамках лабораторных исследований пациентам были определены показатели липидного спектра (таблица 8). В целом группа пациентов «+Ожирение -СД» характеризовалась более благоприятным профилем липидного спектра по сравнению с группами пациентов с ожирением и нарушениями углеводного обмена. Наиболее отчетливые различия наблюдалась в отношении триглицеридов, уровень которых возрастал по мере увеличения метаболических осложнений, достигая максимума у пациентов с длительным анамнезом СД 2, получающих ССП.

Таблица 8. Показатели липидного спектра 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	р (в скобках – номера групп, по отношению к которым есть различия с группой 3)
Холестерин (ммоль/л)	4,5 [3,8; 4,9]	5,5 [5,0; 5,9]	5,3 [3,8; 6,2]	5,0 [4,5; 5,7]	5,9 [4,7; 6,7]	5,3 [4,6; 6,1]	0,004 (0) 0,009 (4)
ЛПНП (ммоль/л)	2,2 [1,8; 2,6]	3,4 [2,7; 3,9]	3,1 [2,0; 4,1]	3,3 [2,7; 3,8]	3,8 [3,0; 4,3]	3,4 [2,8; 4,1]	<0,001 (0)
ЛПВП (ммоль/л)	1,8 [1,4; 2,1]	1,4 [1,2; 1,7]	1,1 [1,0; 1,2]	1,1 [1,0; 1,5]	1,0 [0,8; 1,2]	1,1 [1,0; 1,3]	<0,001 (0)
Триглицериды (ммоль/л)	0,6 [0,5; 0,7]	1,3 [0,7; 1,6]	1,5 [0,9; 2,0]	1,4 [1,1; 1,9]	1,9 [1,3; 2,6]	2,5 [1,6; 3,2]	<0,001 (0,5) 0,003 (4)

Степень ИР определялась по суррогатному маркеру НОМА-ИР (определен у 198 пациентов, имеющих показатель уровня базального инсулина). Группа пациентов «+Ожирение -СД» характеризовалась промежуточным значением ИР: в данной группе ИР была выше, чем у пациентов без ожирения, однако также была значимо ниже, чем у пациентов с ожирением и нарушениями углеводного обмена (рисунок 9).

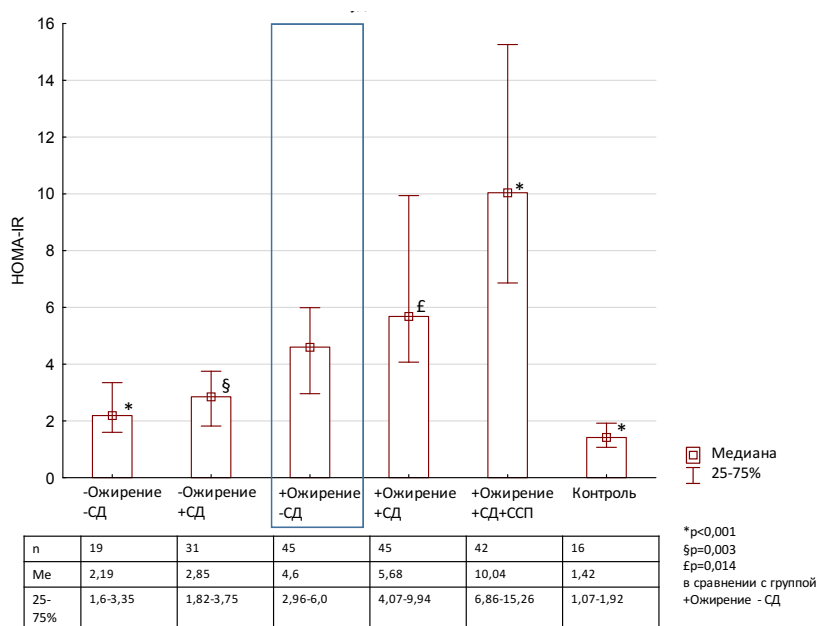


Рисунок 9. Сравнение показателя НОМА-ИР в исследуемых группах.

Среди исследуемых групп были выделены подгруппы пациентов с и без ИР по данным маркера НОМА-IR (таблица 9). Число пациентов с наличием ИР (НОМА-IR \geq 2,7) последовательно увеличивалось от наиболее здоровой группы лиц (контрольная группа) к лицам с ожирением.

Таблица 9. Число пациентов с наличием и отсутствием ИР в исследуемых группах

Название, численность и номер группы	Контроль n=18	- Ожирение - СД n=26	- Ожирение + СД n=34	+ Ожирение - СД n=45	+ Ожирение + СД n=47	+ Ожирение + СД + ССП n=42	Р (в скобках – номера групп, по отношению к которым есть различия с группой 3)
	0	1	2	3	4	5	
НОМА-IR <2,7/ \geq 2,7/ не определено	14/2/2 (77,8%/ 11,1%/ 11,1%)	12/7/7 (46,2%/ 26,9%/ 26,9%)	13/18/3 (38,2%/ 53%/ 8,8%)	8/37/0 (17,8%/ 82,2%/ 0%)	3/42/2 (6,4%/ 89,4%/ 4,2%)	1/41/0 (2,4%/ 97,6%/ 0%)	<0,001 (0,1) 0,007 (2)

Для оценки базальной секреции инсулина у пациентов мы использовали расчетный индекс НОМА-%В, для характеристики стимулированной (1-й фазы) секреции инсулина — индекс инсулиногенности. Группа пациентов «+Ожирение -СД» имела наиболее высокий показатель НОМА-%В среди всех пациентов с избыточной массой тела и ожирением (рисунок 10). В группе «+Ожирение -СД» также определялся более высокий ИИ по сравнению с пациентами с ожирением и нарушениями углеводного обмена. Иными словами, как базальная, так и стимулированная секреция инсулина в группе «+Ожирение -СД» была более высокой, чем у пациентов с СД 2 или предиабетом.

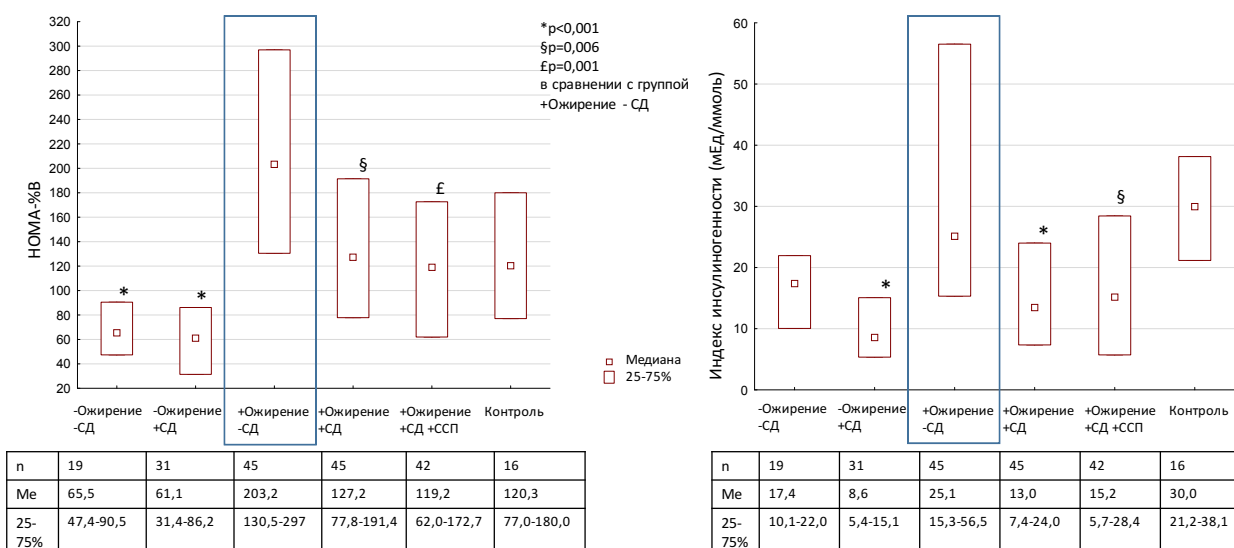


Рисунок 10. Сравнение показателей НОМА-%В и индекса инсулиногенности в исследуемых группах.

В нашем исследовании при исходном делении групп (по ИМТ и уровню HbA1c) были отмечены статистически значимые отличия в секреции ГИП ($p=0,0001$, соответственно, ANOVA Краскел-Уоллис). При парном сравнении значимые различия площади под кривой ГИП обнаружались у лиц группы «+Ожирение -СД» с контрольной группой, группой «-Ожирение -СД» и группой «+Ожирение +СД +ССП» (рисунок 11). Секрция ГПП-1 была значимо выше в контрольной группе, между остальными группами статистически значимых различий получено не было.

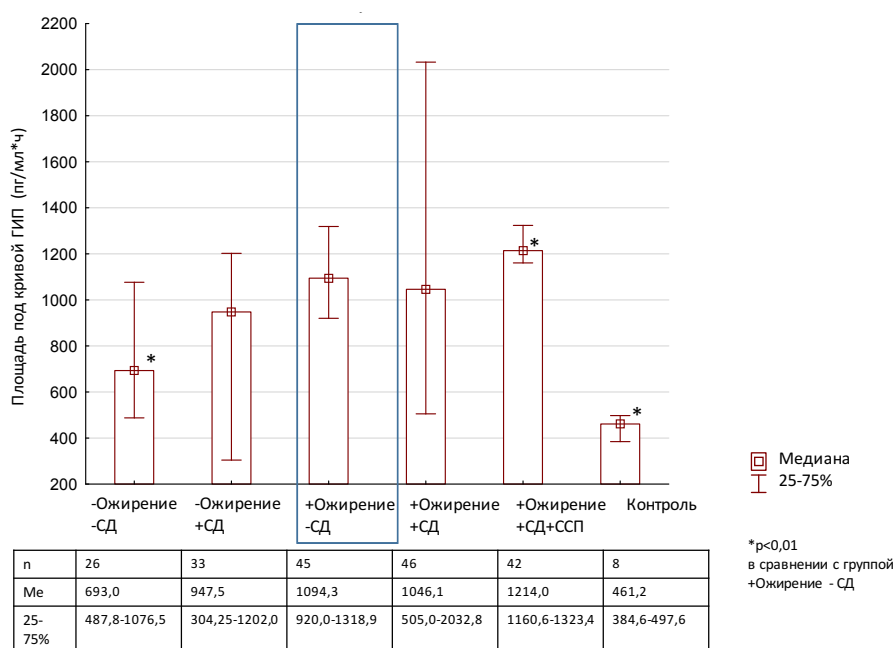


Рисунок 11. Сравнение секреции ГИП в исследуемых группах.

3.2.1 Анализ влияния возраста на исследуемые параметры

В нашем исследовании группа «+Ожирение -СД» значительно отличалась по возрасту от групп «-Ожирение +СД» и «+Ожирение + СД». Возраст пациента сам по себе является фактором риска развития метаболических нарушений. Поэтому тот факт, что пациенты с ожирением без нарушений углеводного обмена в нашем исследовании моложе, чем пациенты с наличием СД 2 или предиабета, выглядит достаточно логичным. С другой стороны, в нашей выборке группа «+Ожирение +СД +ССП», имеющая наиболее выраженные среди всех исследуемых групп метаболические нарушения, сопоставима по возрасту с группой «+Ожирение -СД».

Для оценки вклада возраста в исследуемые в данной работе параметры мы провели дополнительный анализ, посвященный зависимости исследуемых параметров (ОТ, ОТ/ОБ, НОМА-IR, НОМА-%В, ИИ, секреция инкретиновых гормонов) от возраста пациентов. Для этого мы разделили всю популяцию пациентов с избыточной массой тела и ожирением на 2 подгруппы первоначально по ИМТ (<30 кг/м² и ≥30 кг/м²); затем всю популяцию

пациентов разделили по уровню HbA1c ($<6\%$ и $\geq 6\%$). Внутри данных подгрупп подразделили пациентов по возрастным десятилетиям (31-40 и т.д.).

По результатам анализа показатели ОТ/ОБ, ИИ, площадь под кривой ГПП-1 не зависели от возраста пациентов. Показатели ОТ, НОМА-IR, НОМА-% β , площадь под кривой ГИП обнаруживали различия в ранговом анализе вариаций по Краскелу-Уоллису, однако при оценке динамики этих показателей с возрастом четкая закономерность (плавное возрастание/убывание с возрастом) не обнаруживалась. Исключение составил индекс НОМА-%В у лиц без нарушений углеводного обмена – этот показатель прогрессивно снижался с возрастом пациентов. В целом, в нашей выборке пациентов возраст не оказывал определяющего влияния на исследуемые параметры.

3.2.2 Резюме основного результата 2 этапа исследования

Цель данного этапа работы заключалась в определении клинических и лабораторных отличительных черт пациентов с ожирением, у которых не развивается СД 2. По нашим результатам отличие фенотипа пациентов с ожирением без нарушений углеводного обмена от лиц с СД 2 заключалось в менее выраженной ИР и более сохранной базальной и стимулированной секреции инсулина, достаточной для поддержания нормогликемии.

Среди всех групп пациентов отмечались различия в антропометрических показателях; при этом показатель ОТ лучше характеризовал лиц большего метаболического риска по сравнению с соотношением ОТ/ОБ. Также пациентов отличала выраженность триглицеридемии, которая нарастала по мере усугубления метаболических нарушений.

3.3 Результаты проспективного исследования

Третий этап работ был посвящен сравнению лиц с равной выраженностью и длительностью ожирения, но различным статусом углеводного обмена: с наличием и отсутствием СД 2. Методом лечения данных пациентов было выбрано бариатрическое вмешательство, после проведения которого пациенты были повторно обследованы через 3 и 6 месяцев.

В зависимости от исходного наличия СД 2 пациенты разделены на группы с СД 2 (n=42) и без (n=44). В группе лиц с ожирением без нарушений углеводного обмена 23 пациентам было выполнено гастрощунтирование по Ру, 21 пациенту - билиопанкреатическое шунтирование в модификации SADI. У пациентов с СД 2 выполнялись три типа оперативных вмешательств: гастрощунтирование по Ру и билиопанкреатическое шунтирование в модификации SADI – по 13 пациентов, а также продольная резекция желудка 16 пациентам.

3.3.1 Исходные характеристики пациентов

Исходные клинические характеристики пациентов обеих групп представлены в Таблице 10.

Таблица 10. 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
НЬА1с (%)	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

В ходе исследования между группами с СД 2 и без СД 2 не было выявлено значимых различий в рутинных антропометрических показателях, определяющих распределение жировых депо (рис. 12).

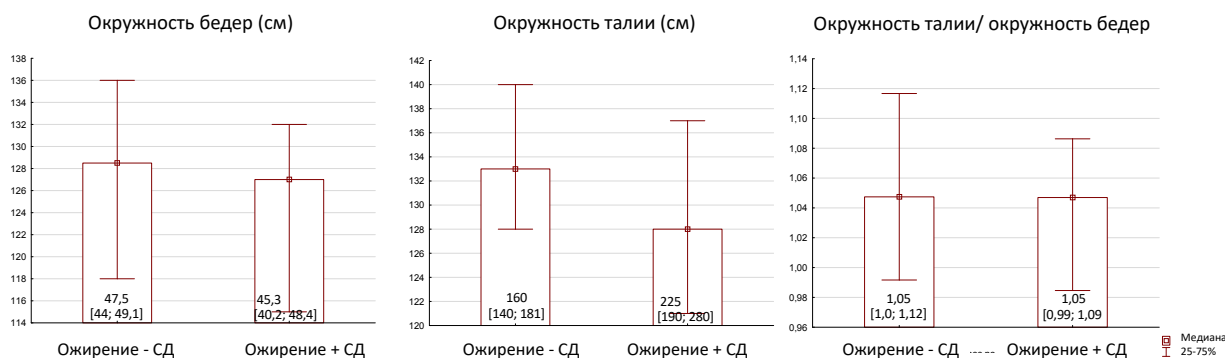


Рисунок 12. Сравнение исходных антропометрических показателей (ОТ, ОБ, ОТ/ОБ) в группах пациентов с ожирением с и без СД 2

Примечание: цифрами в столбцах обозначены медианные значения показателей и интерквартильный размах

Тем не менее, при определении композиционного состава тела методом биоимпедансометрии, были выявлены различия в выраженности висцерального жирового депо (рис. 13). Если общее количество жировой ткани в обеих группах пациентов было сопоставимо, то висцеральная жировая

ткань у пациентов с ожирением и СД 2 была представлена в значимо большем количестве по сравнению с пациентами без СД 2.

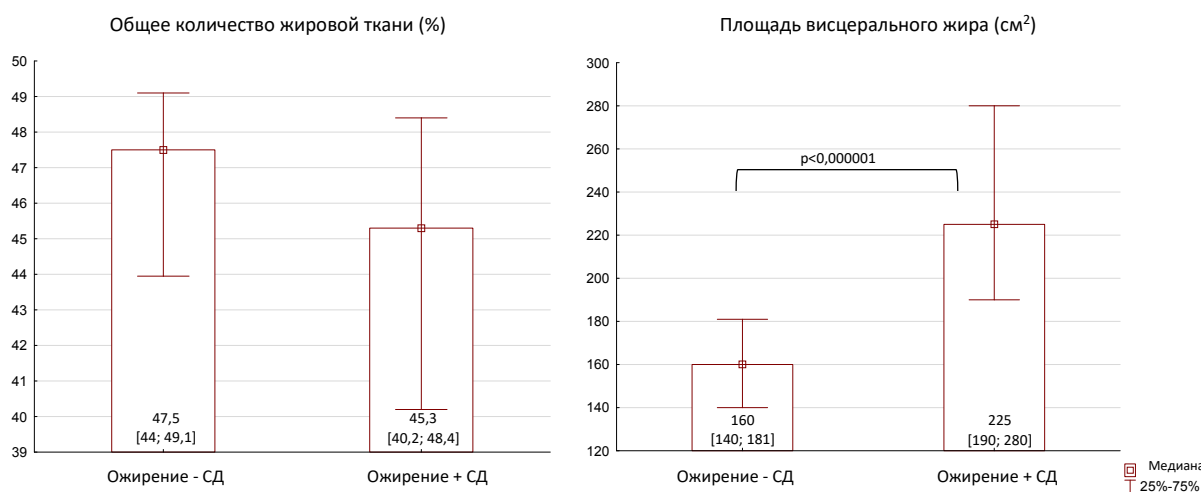


Рисунок 13. Сравнение композиционного состава тела в группах пациентов с ожирением с и без СД 2

Примечание: цифрами в столбцах обозначены медианные значения показателей и интерквартильный размах. Скобкой обозначены различия между группами (критерий Манна-Уитни)

У пациентов обеих групп исходно до проведения бариатрического вмешательства был исследован уровень адипокинов лептина и адипонектина. Пациенты двух групп были сопоставимы по уровню лептина, однако по уровню адипонектина наблюдались статистически значимые различия (рис. 14).

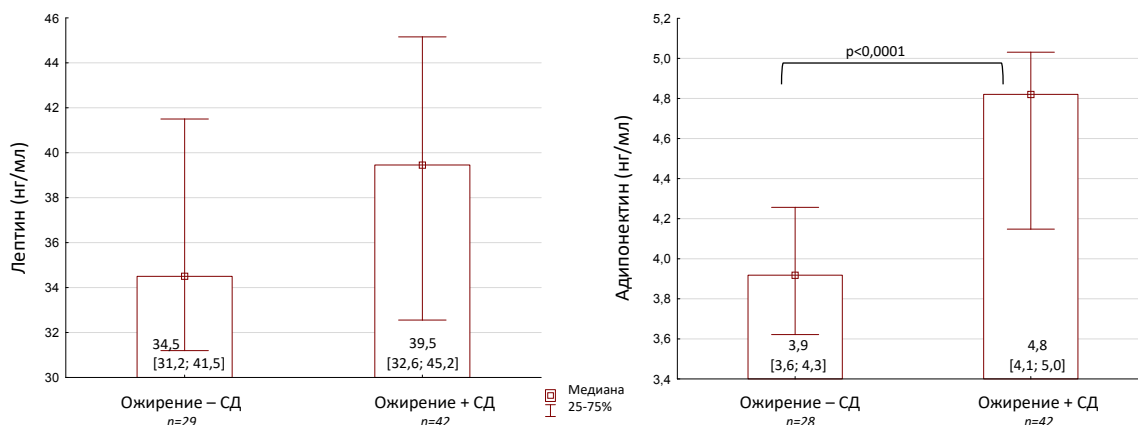


Рисунок 14. Сравнение базальной секреции лептина и адипонектина в группах пациентов с ожирением с и без СД 2

Примечание: цифрами в столбцах обозначены медианные значения показателей и интерквартильный размах. Скобкой обозначены различия между группами (критерий Манна-Уитни)

С учетом проводимых бариатрических вмешательств, точкой приложения которых является реорганизация желудочно-кишечного тракта, в динамике проводилось исследование инкретиновых гормонов.

3.3.2 Изменение клинических и лабораторных параметров в период наблюдения

Бариатрическая операция и вызываемое ею снижение веса оказывали значимое влияние на большинство показателей метаболического контроля. У пациентов обеих групп как без нарушений углеводного обмена (табл. 11), так и с СД 2 (табл. 12) наблюдалось снижение массы тела, выраженности абдоминального ожирения, снижение гликемии и улучшение липидного спектра.

Таблица 11. Динамика антропометрических и клинических показателей (исходно, через 3 и 6 месяцев после бариатрической операции) в группе пациентов с ожирением **без нарушений углеводного обмена**

Показатель	Исходно (n=44)	3 месяца (n=44)	6 месяцев (n=44)	p (<i>Friedman ANOVA</i>)
Вес (кг)	121 [112; 140]	104 [95; 121]	95 [87; 102]	<0,00001
ИМТ (кг/м ²)	43,2 [40,3; 46,5]	37,0 [34,3; 40,2]	33,6 [31,0; 37,3]	<0,00001
Окружность талии (ОТ, см)	133 [128; 140]	122 [117,5; 130]	115 [110; 120]	<0,00001
Окружность бедер (ОБ, см)	128,5 [118; 136]	119,5 [109; 126]	109 [100,5; 114]	<0,00001
ОТ/ОБ	1,05 [0,99; 1,12]	1,04 [1,0; 1,09]	1,07 [1,03; 1,11]	0,002
Общее количество жировой ткани (%)	47,5 [44,0; 49,1]	43,6 [41,8; 46,3]	41,4 [39,4; 43,6]	<0,00001
Площадь висцерального жира (см ²)	160 [140; 181]	130 [110; 145]	120 [100; 130]	<0,00001
HbA1c (%)	5,5 [5,3; 5,8]	5,35 [5,2; 5,5]	5,2 [5,1; 5,4]	<0,00001
Глюкоза натощак (ммоль/л)	5,2 [5,0; 5,7]	5,2 [4,8; 5,7]	4,9 [4,7; 5,1]	0,00418
Глюкоза 30 мин (ПГТТ, ммоль/л)	8,4 [7,4; 9,6]	7,7 [7,2; 9,1]	8,1 [7,4; 9,2]	0,02461
Глюкоза 120 мин (ПГТТ, ммоль/л)	6,0 [4,9; 7,1]	6,6 [5,8; 7,3]	6,2 [5,6; 6,8]	0,05578
Глюкоза плазмы, площадь под кривой (ммоль/л*ч)	14,2 [12,5; 15,4]	14,2 [13,2; 15,8]	14,2 [12,7; 15,0]	0,08397
Общий холестерин (ммоль/л)	5,4 [4,7; 5,8]	5,0 [4,3; 5,3]	4,8 [4,3; 5,1]	<0,0002
ЛПНП (ммоль/л)	3,3 [2,9; 3,7]	3,1 [2,6; 3,5]	3,0 [2,5; 3,4]	<0,00001
ЛПВП (ммоль/л)	1,1 [1,0; 1,5]	1,4 [1,2; 1,7]	1,6 [1,3; 2,0]	<0,00001
Триглицериды (ммоль/л)	1,4 [1,0; 2,0]	1,2 [0,9; 1,8]	1,1 [0,9; 1,7]	<0,00001

Примечание (здесь и далее в таблицах раздела 3.3.): n- число пациентов с измеренным показателем

Таблица 12. Динамика антропометрических и клинических показателей (исходно, через 3 и 6 месяцев после бариатрической операции) в группе пациентов с ожирением и СД 2

Показатель	Исходно (n=42)	3 месяца (n=42)	6 месяцев (n=42)	p (<i>Friedman ANOVA</i>)
Вес (кг)	124 [112; 138]	99 [92; 112]	93 [83; 104]	<0,00001
ИМТ (кг/м ²)	42,3 [39,1; 48,3]	34,3 [32,3; 38,7]	32,1 [29,5; 36,0]	<0,00001
Окружность талии (ОТ, см)	128 [121; 137]	109,5 [105; 120]	105 [101; 115]	<0,00001
Окружность бедер (ОБ, см)	127 [115; 132]	116 [108; 128]	113 [104; 123]	<0,00001
ОТ/ОБ	1,05 [0,99; 1,09]	0,96 [0,93; 1,0]	0,96 [0,92; 0,98]	<0,00002
Общее количество жировой ткани (%)	45,3 [40,2; 48,4]	37,0 [33,8; 40,5]	33,5 [29,4; 35,8]	<0,00001
Площадь висцерального жира (см ²)	225 [190; 280]	155 [120; 180]	130 [100; 160]	<0,00001
НbA1c (%)	8,0 [7,2; 8,7]	6,1 [5,7; 6,3]	5,6 [5,3; 5,7]	<0,00001
Глюкоза натощак (ммоль/л)	8,5 [7,2; 10,1]	5,9 [5,3; 6,9]	5,4 [5,1; 5,8]	<0,00001
Глюкоза 30 мин (ММТ, ммоль/л)	11,4 [9,2; 15,4]	8,2 [7,5; 9,7]	7,7 [7,2; 8,2]	<0,00001
Глюкоза 120 мин (ММТ, ммоль/л)	10,4 [9,1; 13,8]	6,2 [5,9; 7,5]	6,1 [5,5; 7,1]	<0,00001
Глюкоза плазмы, площадь под кривой (ммоль/л*ч)	21,3 [17,6; 27,4]	14,7 [13,2; 16,8]	14,0 [13,1; 14,9]	<0,00001
Общий холестерин (ммоль/л)	5,3 [4,5; 6,1]	4,5 [3,7; 5,0]	4,2 [3,7; 4,8]	<0,00001
ЛПНП (ммоль/л)	3,4 [2,9; 4,1]	3,1 [2,7; 3,7]	3,1 [2,6; 3,6]	<0,00001
ЛПВП (ммоль/л)	1,1 [1,0; 1,3]	1,2 [1,0; 1,4]	1,3 [1,2; 1,5]	<0,00001
Триглицериды (ммоль/л)	2,6 [1,7; 3,4]	2,0 [1,3; 2,4]	1,8 [1,3; 2,2]	<0,00001

У пациентов с СД 2 по мере снижения массы тела уменьшалась потребность в приеме сахароснижающих препаратов. Динамика отмены

сахароснижающих препаратов в этой группе пациентов представлена в таблице 13.

Таблица 13. Исходная сахароснижающая терапия и динамика ее отмены в группе пациентов с ожирением и СД 2

	Исходно	3 месяца	6 месяцев
Количество сахароснижающих препаратов (n, %)			
Монотерапия	11 (26,2%)	17 (40,5%)	9 (21,4%)
Двойная терапия	19 (45,2%)	4 (9,5%)	2 (4,8%)
в т.ч. на инсулинотерапии	1	0	0
Тройная терапия	12 (28,6%)	0	0
в т.ч. на инсулинотерапии	5	0	0
Отмена терапии		21 (50%)	31(73,8%)
Классы сахароснижающих препаратов (n, %)			
Бигуаниды	33 (78,6%)	20 (47,6%)	11 (26,2%)
иДПП-4	17 (40,5%)	3 (7,1%)	2 (4,8%)
иНГЛТ-2	13 (31%)	2 (4,8%)	0
ПСМ	16 (38,1%)	0	0
Базальный инсулин	6 (14,3%)	0	0

Снижение веса и ИМТ после бариатрического вмешательства наблюдалось как у пациентов с СД 2 типа, так и у лиц без нарушений углеводного обмена (рис. 15). Первоначальное снижение массы тела наблюдалось через 3 месяца после операции (у пациентов без СД на 14,0%, у пациентов с СД 2 – на 20,2% от исходной массы тела) и продолжалось в дальнейшем вплоть до 6 месяцев после операции (у пациентов без СД на 21,5%, у пациентов с СД 2 – на 25% от исходной массы тела). Таким образом, эффект бариатрических вмешательств в отношении снижения массы тела не зависела от исходного статуса углеводного обмена.

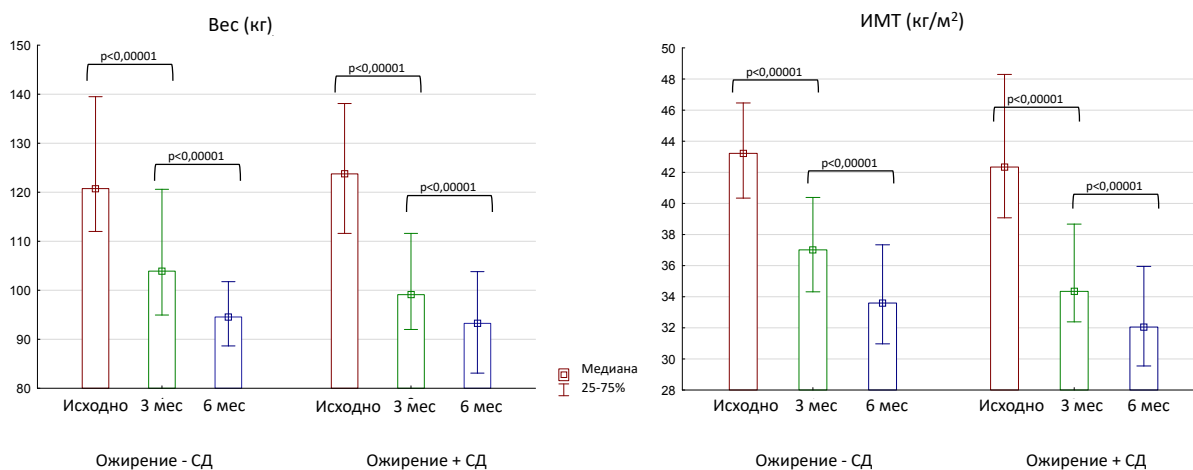


Рисунок 15. Динамика массы тела и ИМТ после бариатрической операции в группах пациентов с ожирением с и без СД 2

Примечание: скобками с указанием уровня значимости обозначены различия между показателями внутри одной группы в динамике (критерий Вилкоксона)

Также в обеих группах наблюдалось снижение выраженности висцерального ожирения, определяемого по показателю ОТ (рис. 16). В группе пациентов с ожирением и СД 2 типа уменьшение ОТ происходило более быстрыми темпами и через 3 месяца пациенты этой группы имели значимо более низкий показатель ОТ по сравнению с лицами без нарушений углеводного обмена. Тем не менее, при дальнейшем наблюдении в обеих группах продолжилось снижение ОТ и к 6 месяцам группы стали сопоставимы по данному показателю. Параметр ОБ снижался в двух группах одновременно со снижением ОТ.

В то же время соотношение ОТ/ОБ демонстрировало разнонаправленные изменения в группе пациентов с СД 2 типа и без (рис. 5). У пациентов с СД 2 типа показатель ОТ/ОБ значимо снизился через 3 месяца после операции и оставался в тех же пределах при дальнейшем наблюдении; у лиц без нарушений углеводного обмена показатель ОТ/ОБ не изменялся через 3 месяца и парадоксально увеличивался к 6 месяцам после оперативного вмешательства.

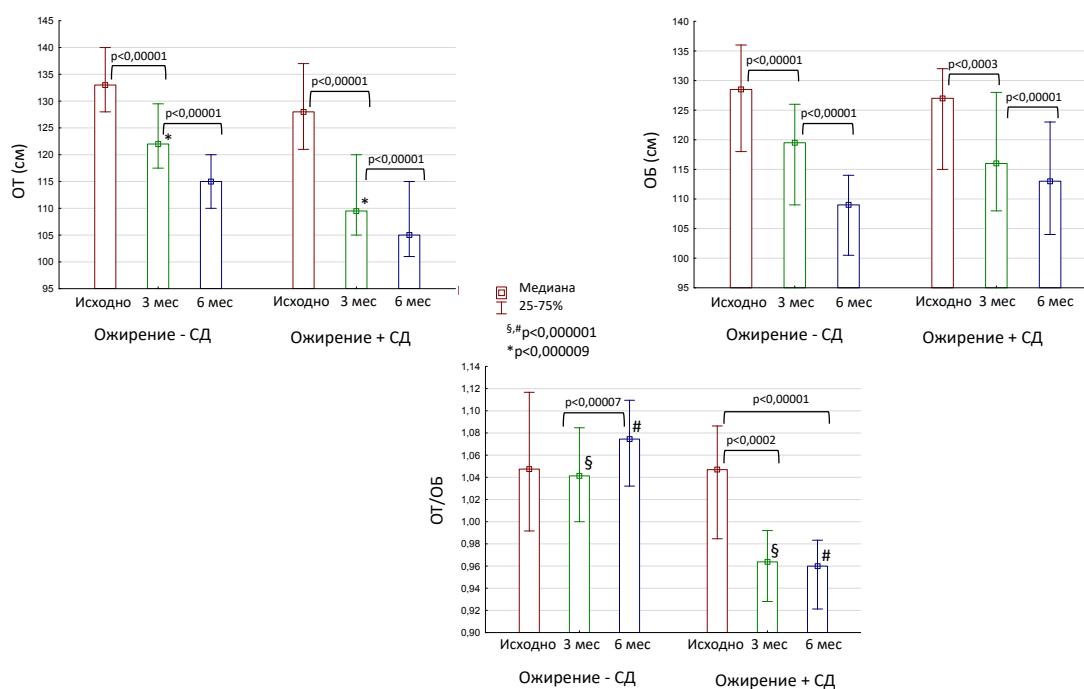


Рисунок 16. Динамика показателей ОТ, ОБ, ОТ/ОБ после бариатрической операции в группах пациентов с ожирением с и без СД 2

Примечание (здесь и далее в рисунках раздела): специальными символами обозначены межгрупповые различия (критерий Манн-Уитни); скобками с указанием уровня значимости обозначены различия между показателями внутри одной группы в динамике (критерий Вилкоксона)

Если антропометрический показатель ОТ/ОБ разнонаправленно изменялся в группах без нарушений углеводного обмена и с СД 2 типа, то композиционный состав тела в динамике изменялся значимо и однонаправленно в обеих группах (рис. 17). Как в группе с, так и без СД 2 типа наблюдалось снижение количества общего жира и выраженности висцерального ожирения. Исходно две группы различались по представленности висцерального жирового депо: у пациентов с ожирением и СД 2 типа количество висцеральной жировой ткани было значимо большим. Однако при снижении массы тела после бариатрической операции пациенты обеих групп сравнивались по данному показателю. Исходное содержание общей жировой ткани не отличалось в группах пациентов с и без СД 2 типа, но в ходе снижения массы тела суммарная потеря жировой клетчатки происходила быстрее у пациентов с СД 2. В результате к 3 и 6 месяцам наблюдения у лиц с

СД 2 отмечалось значимо меньшее количество общей жировой ткани по сравнению с пациентами без нарушений углеводного обмена при сопоставимой выраженности висцерального жирового депо в двух группах пациентов.

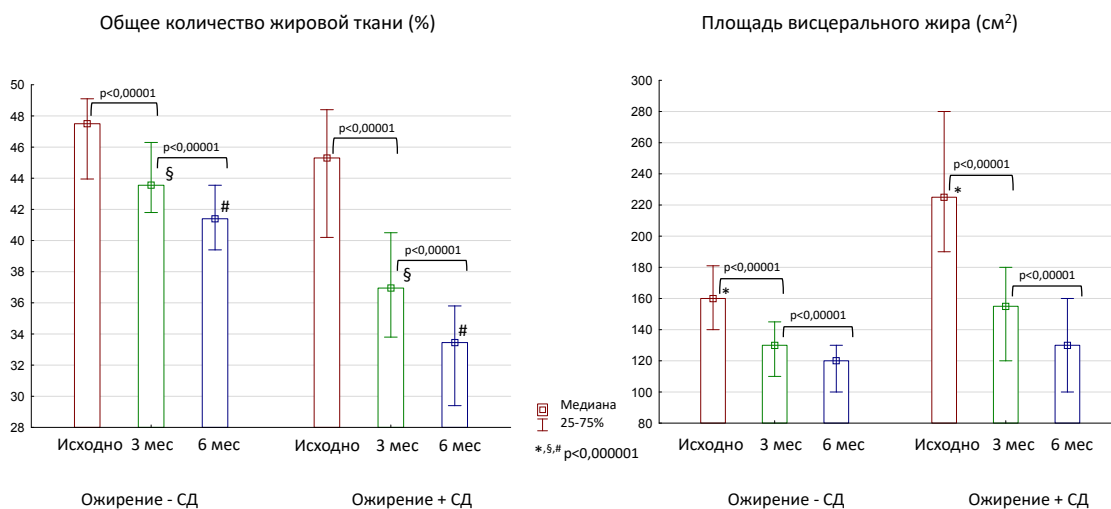


Рисунок 17. Изменение композиционного состава тела после бариатрической операции в группах пациентов с ожирением с и без СД 2

С учетом гендерных особенностей распределения депо жировой ткани был проведен анализ параметров, определяющих композиционный состав тела, с целью оценки возможных различий у мужчин и женщин. Среди пациентов без исходных нарушений углеводного обмена не было отмечено различий в исходных и послеоперационных значениях ОТ, ОТ/ОБ, количестве общего и висцерального жира (рис. 18).

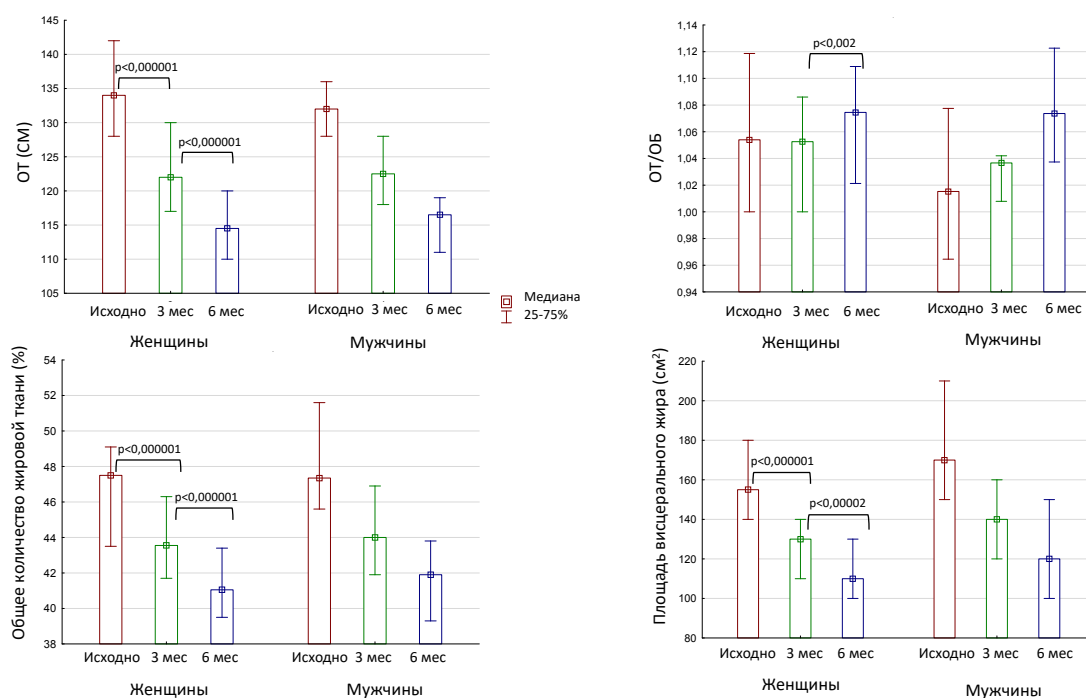


Рисунок 18. Динамика показателей ОТ, ОТ/ОБ, композиционного состава тела у мужчин и женщин в группе с ожирением без нарушений углеводного обмена

Существенных отличий в исходном композиционном составе тела между мужчинами и женщинами не отмечалось и у лиц с ожирением и СД 2 (рис. 19). В динамическом наблюдении через 3 месяца у мужчин количество висцерального жира было более высоким по сравнению с женщинами, однако к 6-ти месяцам этот показатель сравнялся между полами. К окончанию исследования единственным различием был больший суммарный процент жировой ткани у женщин по сравнению с мужчинами. Таким образом, сопоставимость антропометрических параметров позволила объединить подгруппы мужчин и женщин для последующего анализа.

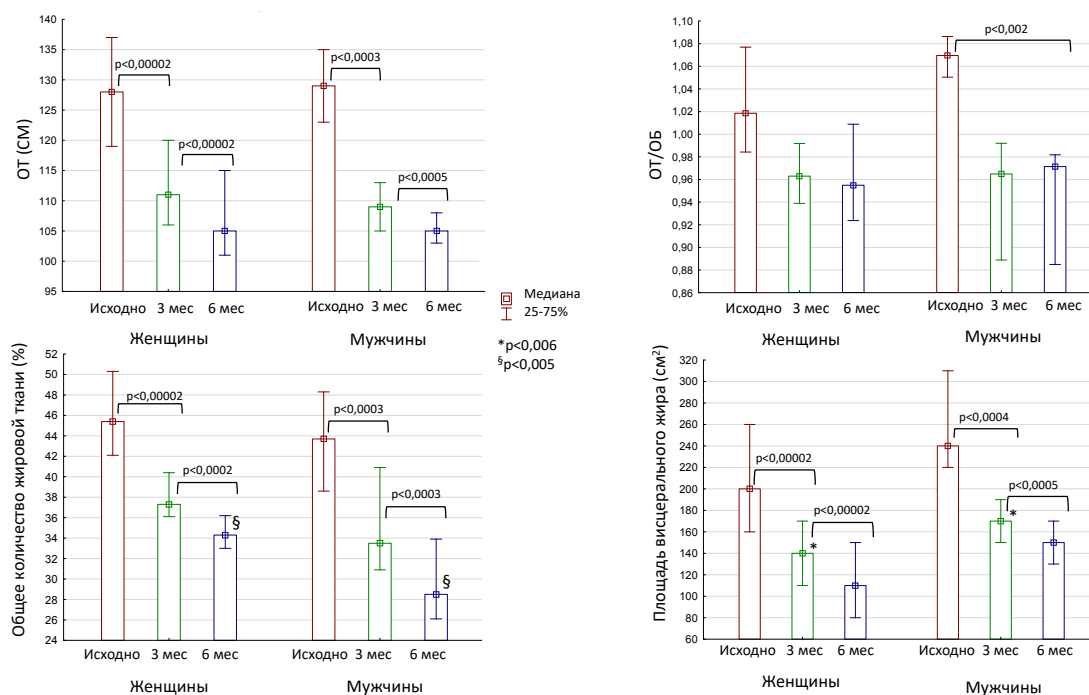


Рисунок 19. Динамика показателей ОТ, ОТ/ОБ, композиционного состава тела у мужчин и женщин в группе с ожирением и СД 2

В группе пациентов с ожирением и СД 2 типа закономерно отмечалось улучшение состояния углеводного обмена, определяемое по уровню гликированного гемоглобина и гликемии в ходе теста с углеводной нагрузкой (рис. 20). Однако необходимо отметить, что в группе пациентов без исходных нарушений углеводного обмена также наблюдалось небольшое, но значимое снижение гликированного гемоглобина.

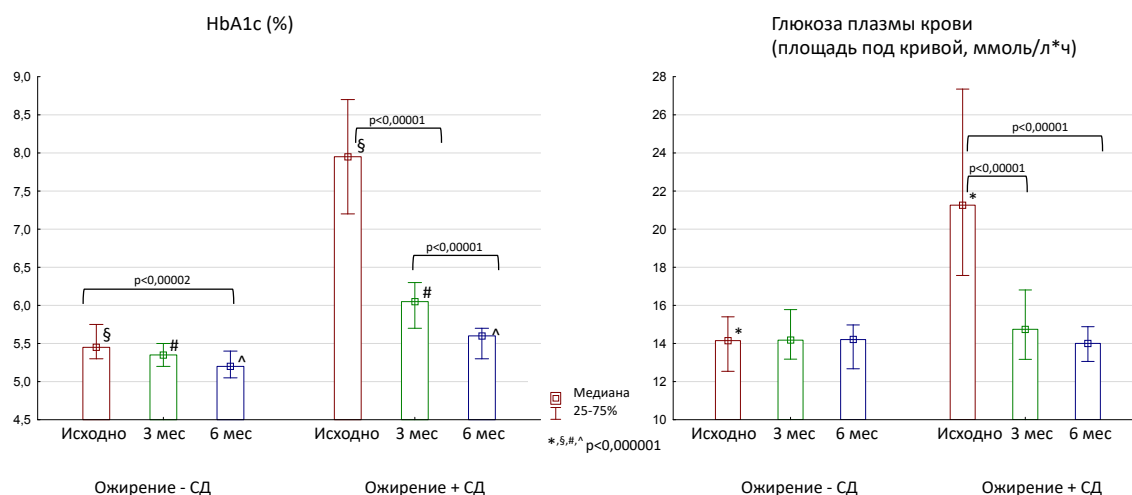


Рисунок 20. Динамика показателей компенсации углеводного обмена после бариатрической операции в группах пациентов с ожирением с и без СД 2

В соответствии с критериями формирования групп пациенты обеих групп исходно имели значимые различия в уровне глюкозы во всех трех точках теста с углеводной нагрузкой (0', 30' и 120' минут). В группе пациентов с исходным СД 2 гипергликемия, наблюдаемая через 30 минут после приема 82,5 г моногидрата глюкозы, значимо не изменялась к окончанию теста (рис. 21).

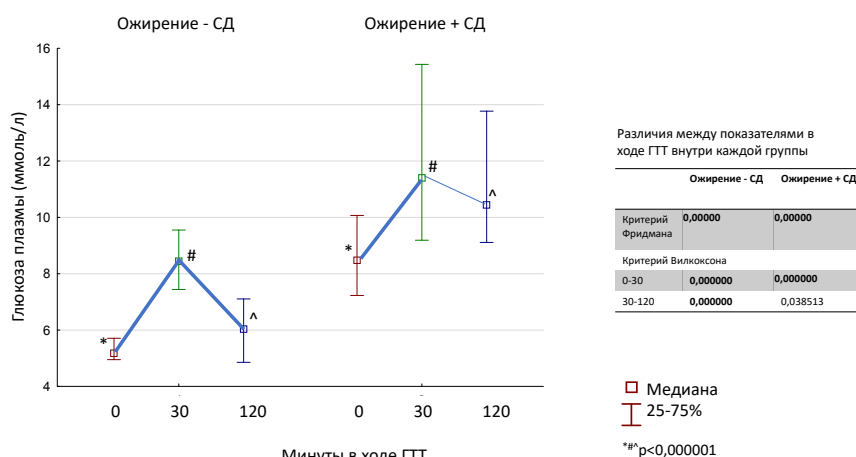


Рисунок 21. Динамика гликемии в ходе исходного теста с углеводной нагрузкой в группах пациентов с и без СД 2

Примечание (здесь и далее): специальными символами обозначены межгрупповые различия (критерий Манна-Уитни); жирным выделением линии обозначено наличие значимой динамики показателя в ходе теста с углеводной нагрузкой (критерий Вилкоксона)

Уже через 3 месяца после оперативного вмешательства значимые различия между группами пациентов с и без СД 2 в ходе теста с углеводной нагрузкой сохранялись только в значении гликемии плазмы натощак, тогда как постпрандиальная гликемия, как пиковая, так и через 120 минут после углеводной нагрузки, стала сопоставима в обеих группах (рис. 22).

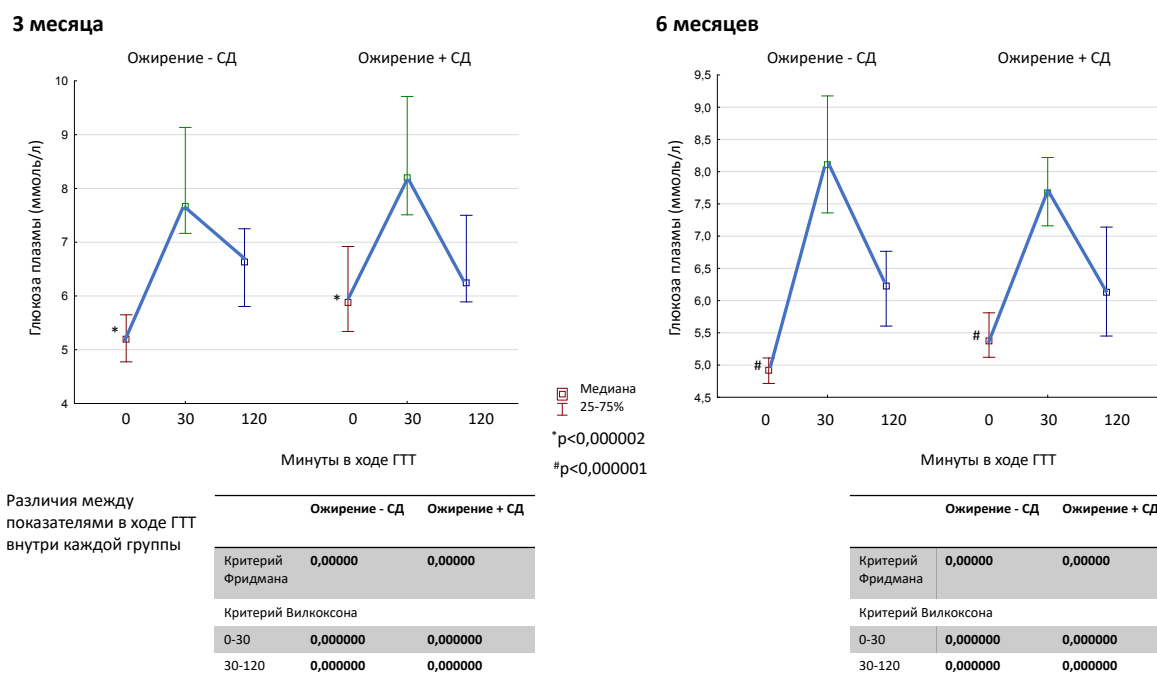


Рисунок 22. Динамика гликемии в ходе теста с углеводной нагрузкой через 3 и 6 месяцев наблюдения в группах пациентов с и без СД 2

Динамика гликемии в каждой группе в ходе трех тестов представлена на рисунке 23. В группе пациентов без исходных нарушений углеводного обмена закономерно не отмечалось динамики гликемии в течение 6-ти месяцев. В группе пациентов с СД 2 значимое снижение гликемии как натощак, так и постпрандиально наблюдалось уже через 3 месяца после вмешательства, в дальнейшем отмечалось дополнительное снижение уровня гликемии плазмы натощак.

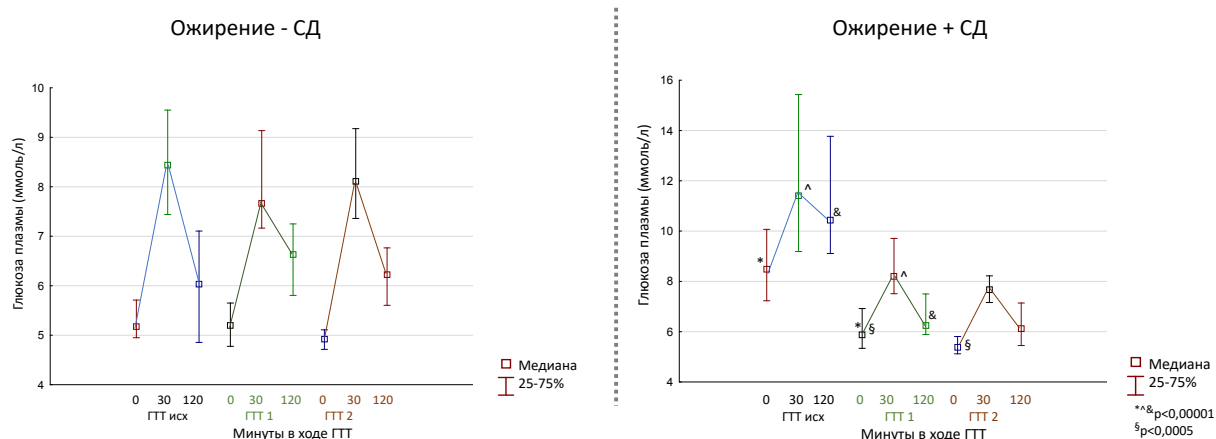


Рисунок 23. Динамика гликемии в ходе теста с углеводной нагрузкой исходно, через 3 и 6 месяцев в группах пациентов с и без СД 2

Помимо компенсации углеводного обмена в обеих группах происходило улучшение липидного профиля (рис. 24). У пациентов как с, так и без СД 2 типа наблюдалось снижение уровня общего холестерина, холестерина ЛПНП и триглицеридов наряду с увеличением ЛПВП. Стоит отметить, что к окончанию периода наблюдения пациенты без исходных нарушений углеводного обмена имели более благоприятный профиль липидного спектра, заключающийся в меньшей выраженности гипертриглицеридемии и более высоком уровне ЛПВП.

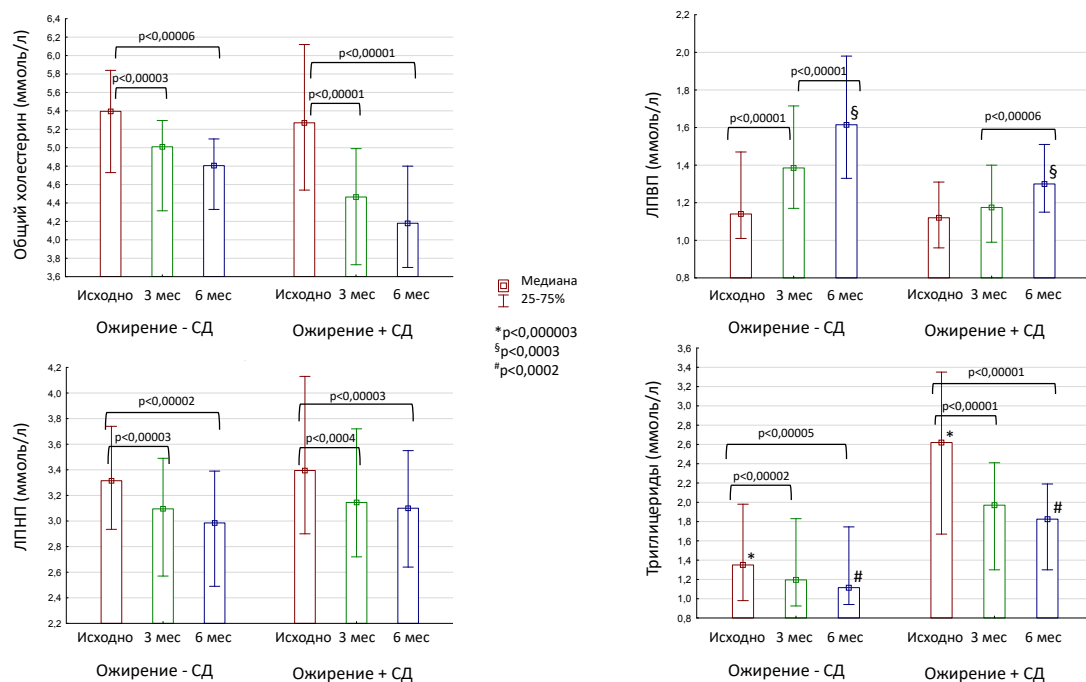


Рисунок 24. Динамика показателей липидного спектра после бариатрической операции в группах пациентов с ожирением с и без СД 2

3.3.3 Изменение секреции гормонов поджелудочной железы в период наблюдения

В ходе исследования у пациентов обеих групп оценивалась динамика показателей, характеризующих ИР и секреторную активность α - и β -клеток поджелудочной железы (табл. 14 и табл. 15).

Таблица 14. Динамика уровня инсулинорезистентности и секреторной активности островковых клеток поджелудочной железы (исходно, через 3 и 6 месяцев после бариатрической операции) в группе пациентов с ожирением без нарушений углеводного обмена

Показатель	Исходно (n=44)	3 месяца (n=44)	6 месяцев (n=44)	p (Friedman ANOVA)
М-индекс (мг/кг*мин)	4,1 [3,1; 5,0]	4,9 [3,8; 5,6]	5,1 [4,3; 6,2]	<0,00001

НОМА-IR	4,8 [3,2; 6,4]	4,0 [3,3; 4,8]	3,5 [2,8; 4,8]	<0,0002
Инсулин натощак, мкЕд/мл	20,6 [14,6; 26,0]	17,7 [14,3; 22,3]	15,9 [12,7; 21,0]	<0,0003
Инсулин 30 мин (ПГТТ, мкЕд/мл)	106,2 [85,2; 164,5]	144,3 [81,8; 201,6]	168,1 [83,2; 228,5]	<0,00001
Инсулин 120 мин (ПГТТ, мкЕд/мл)	59,8 [28,4; 87,5]	68,0 [51,4; 90,3]	69,0 [56,9; 90,1]	<0,0007
Инсулин, площадь под кривой (мкЕд/мл*ч)	176,1 [126,7; 238,4]	206,9 [137,9; 284,8]	230,4 [141,6; 298,2]	<0,00001
С-пептид натощак, нг/мл	4,0 [3,2; 4,8]	4,4 [3,7; 5,0]	4,5 [3,8; 5,1]	0,07513
С-пептид 30 мин (ПГТТ, нг/мл)	9,1 [7,2; 11,7]	9,6 [7,8; 12,1]	9,5 [7,7; 12,0]	0,49433
С-пептид 120 мин (ПГТТ, нг/мл)	9,1 [6,6; 12,2]	9,6 [8,1; 11,8]	9,8 [8,1; 11,9]	0,85292
НОМА-В (%)	231,2 [154,1; 321,8]	217,3 [160,2; 348,0]	221,1 [161,0; 392,3]	0,41215
ИИ	29,3 [17,0; 58,1]	45,7 [25,6; 81,8]	43,9 [21,0; 76,5]	0,00226
Индекс утилизации глюкозы	117,5 [74,7; 275,1]	185,6 [113,3; 463,9]	256,3 [106,8; 430,8]	<0,00001
Глюкагон натощак (пмоль/л)	4,1 [3,6; 5,0]	4,0 [3,5; 4,7]	3,9 [3,4; 4,5]	0,00001
Глюкагон 30 мин (ПГТТ, пмоль/л*ч)	10,2 [8,6; 12,2]	8,0 [7,0; 10,3]	7,3 [6,4; 9,2]	<0,00001
Глюкагон 120 мин (ПГТТ, пмоль/л*ч)	8,1 [6,3; 9,2]	7,2 [5,5; 8,0]	6,8 [5,3; 7,7]	<0,00001
Глюкагон, площадь под кривой (пмоль/л*ч)	17,3 [15,1; 19,4]	14,6 [12,7; 16,4]	13,3 [11,9; 15,9]	<0,00001

Таблица 15. Динамика уровня инсулинорезистентности и секреторной активности островковых клеток поджелудочной железы (исходно, через 3 и 6 месяцев после бариатрической операции) в группе пациентов с ожирением и СД 2

Показатель	Исходно (n=42)	3 месяца (n=42)	6 месяцев (n=42)	p (<i>Friedman ANOVA</i>)
М-индекс (мг/кг*мин)	1,5 [1,0; 2,2]	3,4 [2,6; 4,3]	5,0 [4,1; 5,2]	<0,00001
НОМА-IR	10,0 [6,9; 15,3]	2,8 [2,3; 4,1]	2,6 [2,2; 3,3]	<0,00001
Инсулин натощак, мкЕд/мл	25,1 [17,2; 37,9]	10,7 [8,4; 13,4]	10,1 [9,3; 12,4]	<0,00001
Инсулин 30 мин (ММТ, мкЕд/мл)	94,0 [42,7; 122,6]	138,4 [106,5; 168,0]	134,2 [113,3; 152,6]	0,00004
Инсулин 120 мин (ММТ, мкЕд/мл)	47,1 [24,2; 77,7]	15,7 [12,2; 18,5]	13,0 [10,3; 19,5]	<0,00001
Инсулин, площадь под кривой (мкЕд/мл*ч)	146,1 [71,7; 188,5]	160,2 [120,5; 184,9]	150,6 [123,7; 170,1]	0,03797
С-пептид натощак, нг/мл	4,8 [3,9; 5,7]	2,9 [2,4; 3,5]	2,7 [2,4; 3,2]	<0,00001
С-пептид 30 мин (ММТ, нг/мл)	7,2 [5,7; 9,8]	9,3 [8,3; 10,2]	9,1 [8,1; 9,9]	0,02621
С-пептид 120 мин (ММТ, нг/мл)	6,6 [5,0; 9,9]	5,2 [4,4; 6,3]	5,0 [4,1; 5,7]	0,00004
НОМА-В (%)	119,2 [62,0; 164,9]	93,3 [59,5; 136,3]	114,0 [78,2; 134,8]	0,55943
ИИ	14,8 [4,9; 28,4]	50,1 [30,5; 73,5]	50,7 [35,9; 75,2]	<0,00001
Индекс утилизации глюкозы	14,0 [5,6; 56,5]	148,6 [77,7; 277,0]	50,7 [35,9; 75,2]	<0,00001
Глюкагон натощак (пмоль/л)	8,3 [7,3; 9,5]	8,0 [7,1; 9,2]	7,9 [7,1; 9,1]	0,01665
Глюкагон 30 мин (ММТ, пмоль/л*ч)	14,7 [12,8; 18,4]	12,0 [10,1; 14,3]	11,4 [10,4; 13,6]	<0,00001
Глюкагон 120 мин (ММТ, пмоль/л*ч)	11,5 [10,2; 13,0]	9,4 [8,0; 10,7]	9,6 [8,6; 11,7]	0,00004

Глюкагон, площадь под кривой (пмоль/л*ч)	25,2 [22,8; 30,1]	21,3 [18,3; 24,7]	20,6 [19,1; 24,5]	<0,00001
--	----------------------	----------------------	----------------------	--------------------

У пациентов обеих групп отмечалось значимое снижение ИР после проведения бариатрического вмешательства (рис. 25). Динамика ИР, оцениваемая в ходе клэмп-теста, значительно снижалась последовательно через 3 и 6 месяцев после операции в обеих группах. Паттерн изменения маркера ИР НОМА-IR был несколько иным: этот показатель снижался резко в группе пациентов с СД 2 через 3 месяца наблюдения и снижался более плавно у пациентов без СД 2.

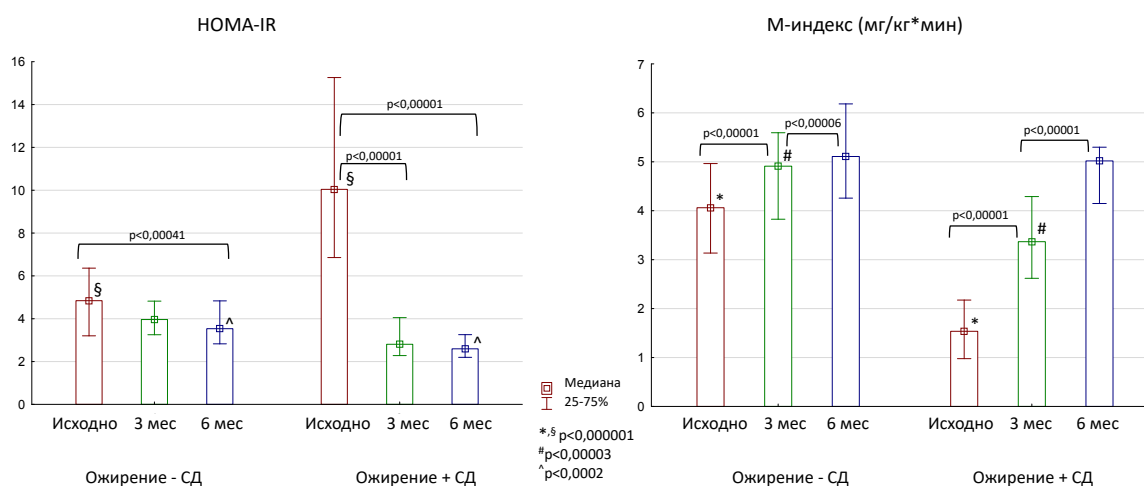


Рисунок 25. Динамика ИР после бариатрической операции в группах пациентов с ожирением с и без СД 2

В нашем исследовании, как ни странно, секреция инсулина в ходе ГТТ до оперативного вмешательства была сопоставима в обеих группах (рис. 26).

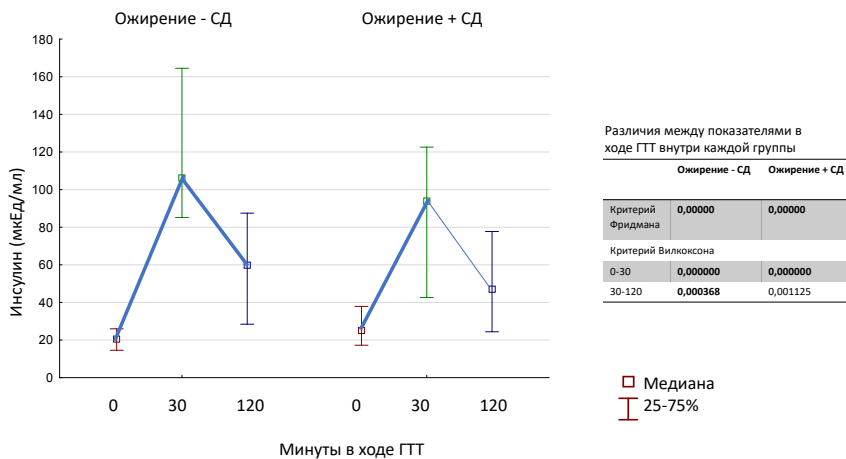


Рисунок 26. Динамика секреции инсулина в ходе исходного теста с углеводной нагрузкой в группах пациентов с и без СД 2

Через 3 и 6 месяцев после оперативного вмешательства в группе пациентов с исходным СД 2 секреция инсулина натощак и через 120 минут после приема глюкозы была значимо ниже, чем в группе пациентов без нарушений углеводного обмена, однако значения пиковой секреции инсулина оставалась схожими (рис. 27).

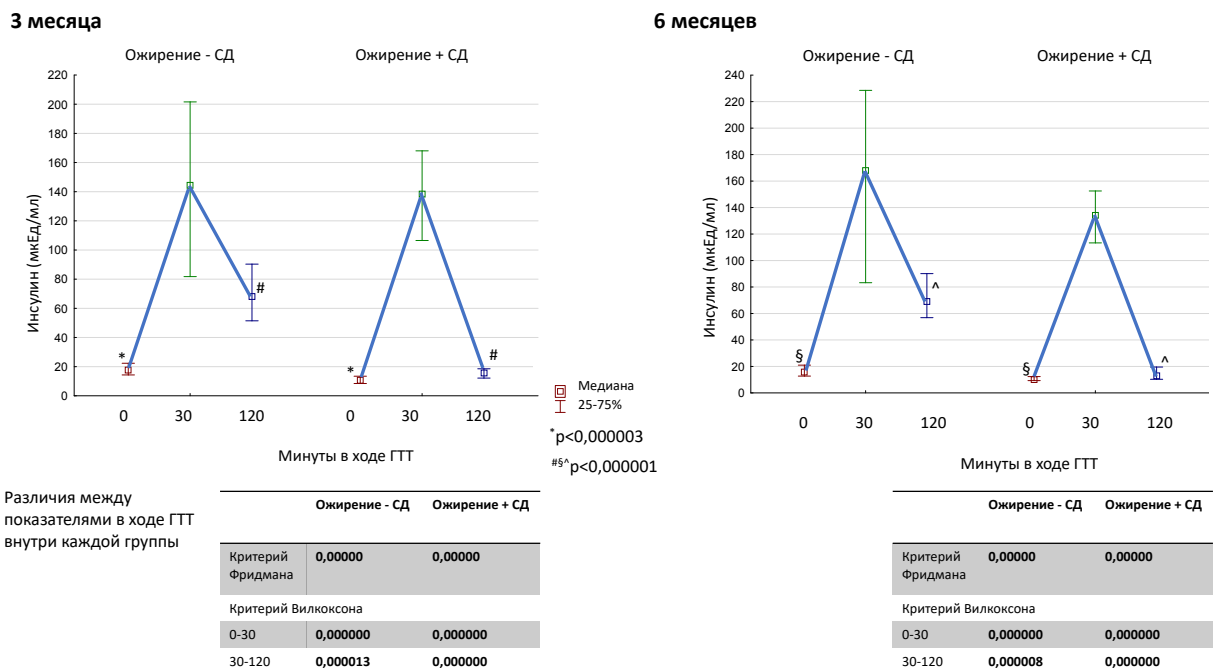


Рисунок 27. Динамика секреции инсулина в ходе теста с углеводной нагрузкой через 3 и 6 месяцев наблюдения в группах пациентов с и без СД 2

При динамическом наблюдении секреция инсулина в группах пациентов с и без СД 2 была различной (рис. 28). У пациентов без исходных нарушений углеводного обмена через 3 и 6 месяцев после оперативного вмешательства наблюдалось увеличение стимулированной секреции инсулина (в точке 30 минут). У пациентов с СД 2 значимого прироста пиковой секреции инсулина в ходе теста с углеводной нагрузкой не наблюдалось, наоборот, отмечалось снижение уровня базального уровня инсулина через 3 месяца.

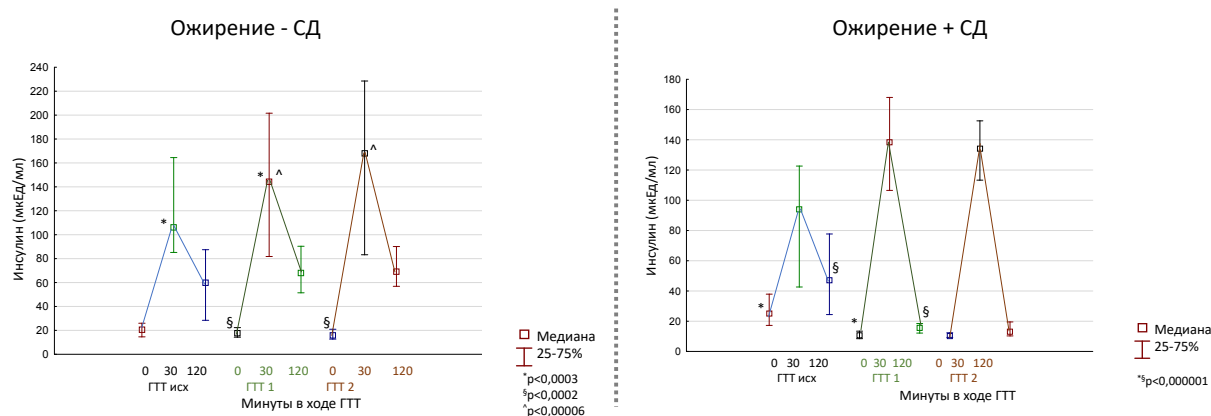


Рисунок 28. Динамика секреции инсулина в ходе теста с углеводной нагрузкой исходно, через 3 и 6 месяцев в группах пациентов с и без СД 2

Несмотря на схожесть паттернов секреции инсулина в группах пациентов с и без СД 2 во всех трех тестах, показатели секреторной способности β-клетки отличались в двух группах (рис. 29). Согласно индексу НОМА-%В, оценивающему адекватность базальной секреции инсулина для поддержания нормогликемии, группа пациентов без исходного СД 2 имела значимо более сохранную выработку инсулина для обеспечения нормогликемии натощак на протяжении всего эксперимента. В динамике данный показатель не изменялся в обеих группах. Что касается первой фазы секреции инсулина, то она определялась по индексу инсулиногенности. Этот показатель был значимо ниже в группе лиц с СД 2 до операции, но уже к 3 месяцам обе группы имели сопоставимые показатели ИИ. Аналогично

показателю НОМА-%В, ИИ не изменялся в динамике у пациентов с ожирением без нарушений углеводного обмена, тогда как в группе пациентов с СД 2 отмечался значимый прирост данного показателя через 3 месяца после оперативного вмешательства.

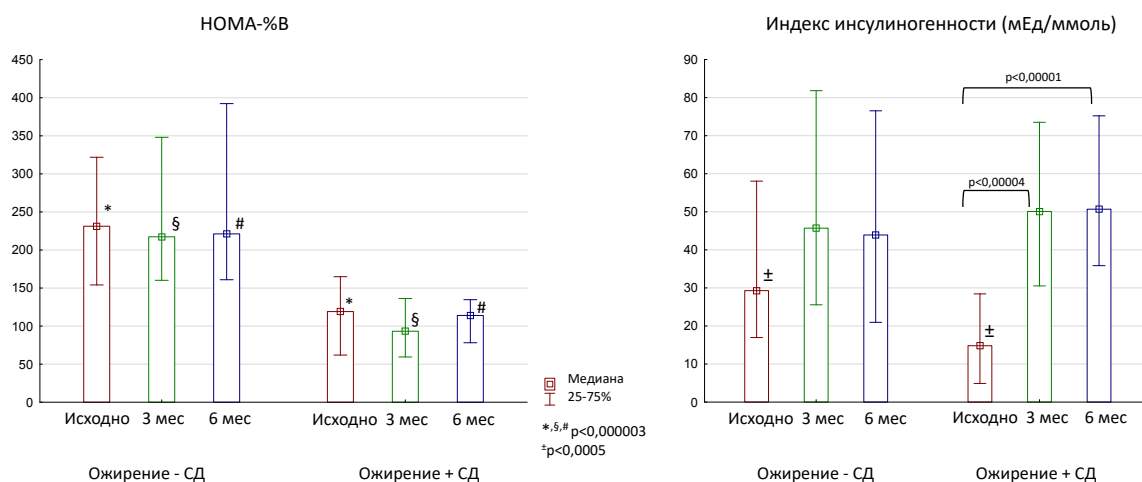


Рисунок 29. Динамика показателей функции β-клетки после бариатрической операции в группах пациентов с и без СД 2

Индекс утилизации глюкозы является интегральным показателем, отражающим взаимосвязь ИР и ранней фазы секреции инсулина. Чем выше данный показатель, тем лучше инсулин-зависимые ткани адаптированы к условиям ИР. Индекс утилизации глюкозы был выше в группе пациентов с ожирением без СД 2 до проведения бариатрического вмешательства, тогда как после операции различия между группами исчезли (рис. 30). В обеих группах отмечалась положительная динамика данного показателя в виде увеличения индекса утилизации глюкозы к 6 месяцам наблюдения.

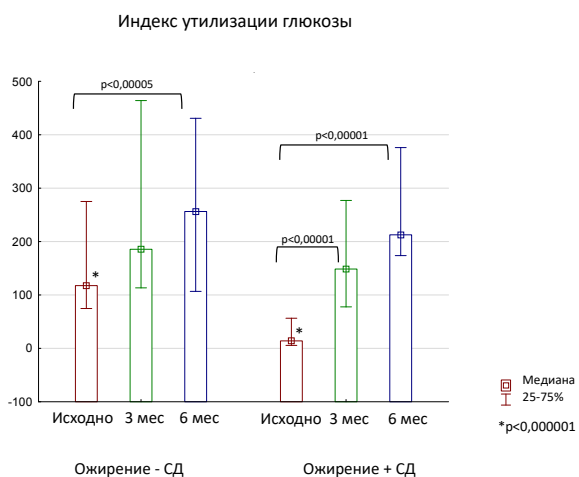


Рисунок 30. Динамика индекса утилизации глюкозы после бариатрической операции в группах пациентов с и без СД 2

Уровень глюкозы плазмы подчинен двунаправленному влиянию гормонов поджелудочной железы инсулина и глюкагона. В нашей работе выработка инсулина оценивалась с разных позиций как по абсолютному уровню секреции, так и с помощью индексов, соотносящих секрецию инсулина и концентрацию гликемии. Помимо этого, мы определяли площадь под кривой секреции инсулина и глюкагона в динамике в ходе тестов с углеводной нагрузкой. Площадь под кривой позволяет оценить суммарное количество выделившегося гормона в ответ на нагрузку глюкозой. В группе пациентов с ожирением без нарушений углеводного обмена в ходе наблюдения после оперативного вмешательства секреция инсулина возрастала, а секреция глюкагона плавно снижалась (рис. 31). У пациентов с исходным СД 2 суммарная секреция инсулина в ходе теста с углеводной нагрузкой не изменялась, а выработка глюкагона значительно сокращалась к 3-му месяцу наблюдения. При сравнении двух групп между собой было отмечено, что показатели секреции глюкагона во всех трех точках измерения были значительно ниже в группе пациентов без СД 2, чем у пациентов с исходным СД 2. В то же время секреция инсулина стала различаться только к 6-му месяцу после оперативного вмешательства, когда ее уровень в группе пациентов без

СД 2 значительно превысил уровень секреции инсулина у пациентов с анамнезом СД 2.

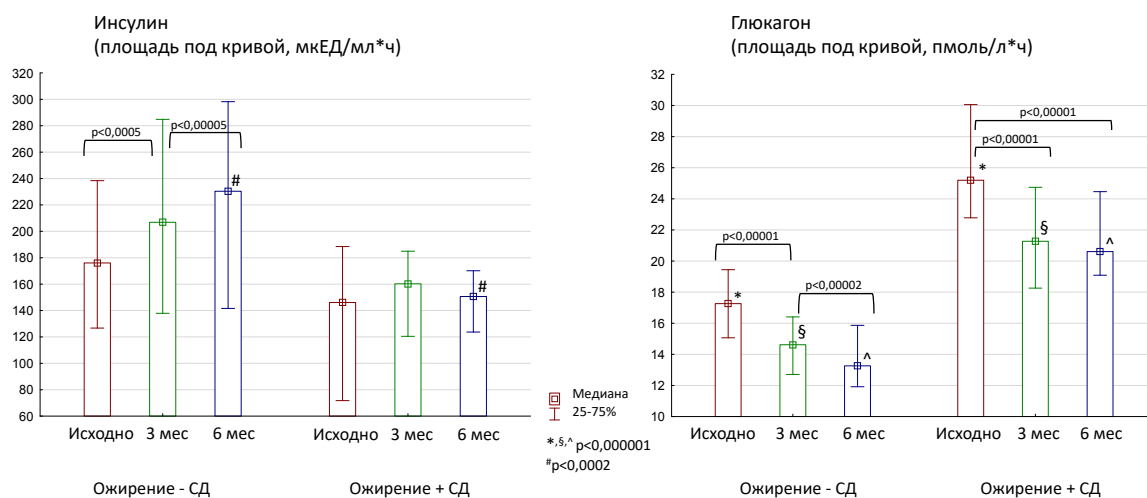


Рисунок 31. Динамика секреции инсулина и глюкагона (площадь под кривой) после бариатрической операции в группах пациентов с и без СД 2

В исходных тестах с углеводной нагрузкой выработка глюкагона как натощак, так и постпрандиально в группе с СД 2 значительно превосходила соответствующие значения глюкагона в группе пациентов без нарушений углеводного обмена (рис. 32). При этом в обеих группах подавления глюкагона в ответ на нагрузку глюкозой не происходило.

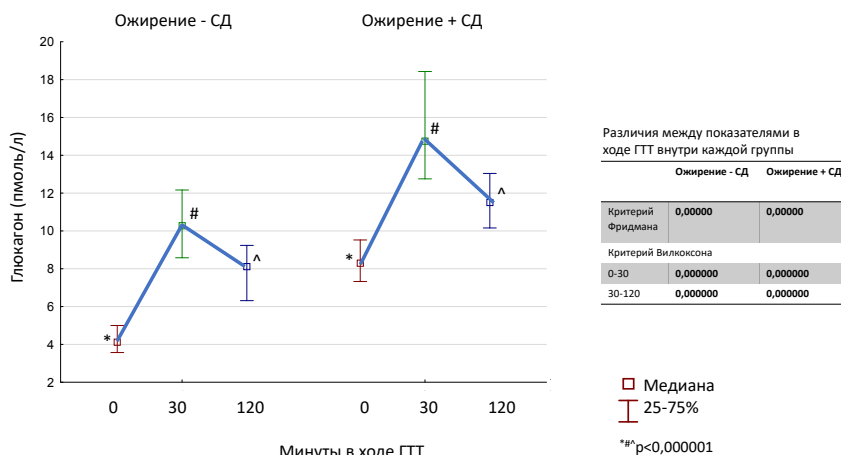


Рисунок 32. Динамика секреции глюкагона в ходе исходного теста с углеводной нагрузкой в группах пациентов с и без СД 2

Через 3 и 6 месяцев после оперативного вмешательства паттерн секреции глюкагона не менялся: на пике углеводной нагрузки в обеих группах сохранялось повышение уровня глюкагона (рис. 33). Также на протяжении всего эксперимента у пациентов с СД 2 уровень глюкагона в ходе теста был значимо выше, чем у лиц без нарушений углеводного обмена.

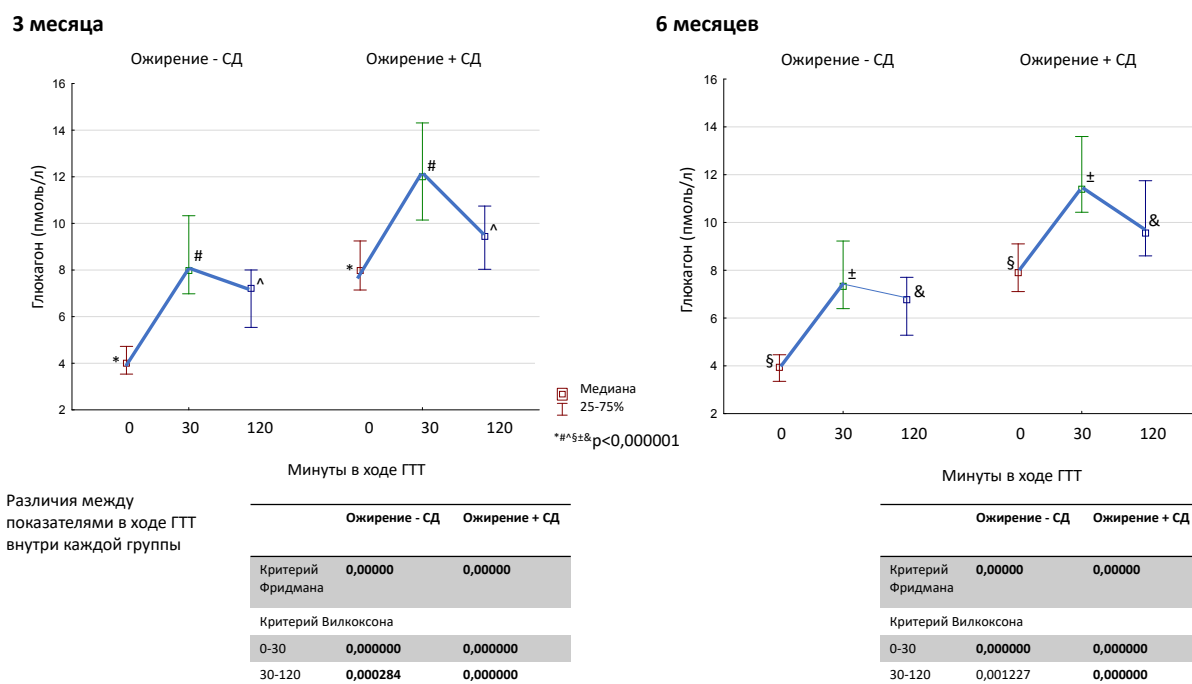


Рисунок 33. Динамика секреции глюкагона в ходе теста с углеводной нагрузкой через 3 и 6 месяцев наблюдения в группах пациентов с и без СД 2

В обеих группах секреция глюкагона снижалась от исходных значений к 6-му месяцу наблюдения преимущественно за счет уменьшения пикового (на 30-й минуте) синтеза гормона, при этом значения глюкагона натощак оставались стабильными в обеих группах в течение всего исследования (рис. 34).

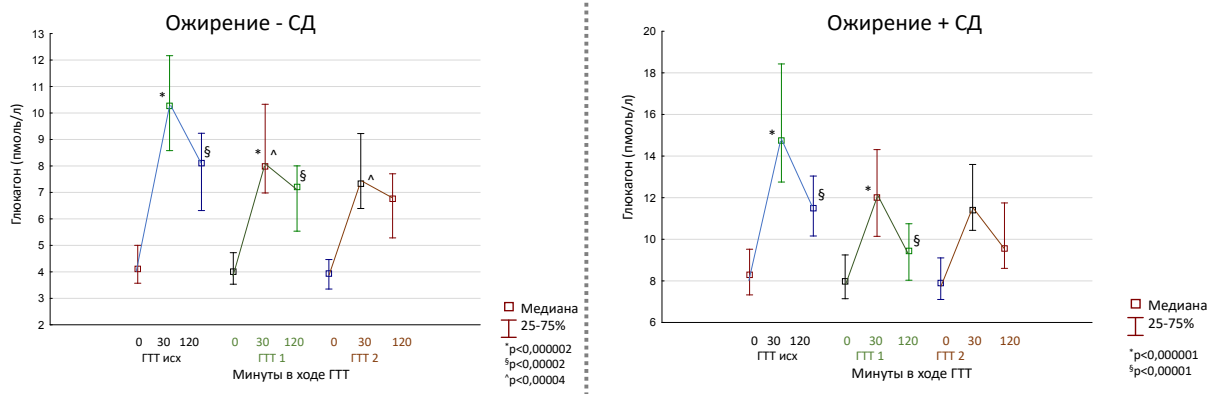


Рисунок 34. Динамика секреции глюкагона в ходе теста с углеводной нагрузкой исходно, через 3 и 6 месяцев в группах пациентов с и без СД 2

Аналогично индексу инсулиногенности для глюкагона был рассчитан его прирост, то есть соотношение разницы секреции глюкагона в 30 минут по отношению к исходному уровню к аналогичному показателю для уровня гликемии (рис. 35). Также для оценки суммарного количества глюкагона, вырабатываемого в ходе теста с углеводной нагрузкой на 1 ммоль глюкозы, был рассчитан показатель отношения площади под кривой глюкагона к площади под кривой глюкозы. Если в группе пациентов без исходных нарушений углеводного обмена этот показатель снижался после оперативного вмешательства (секреция глюкагона на единицу глюкозы плазмы уменьшалась), то у пациентов с СД 2 соотношение глюкагон/глюкоза возрастало к окончанию наблюдения.

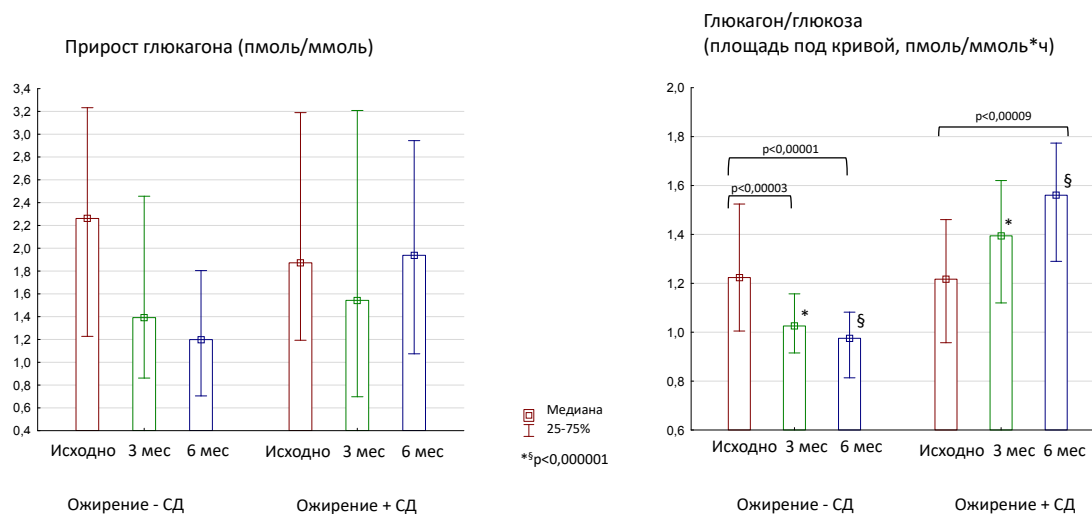


Рисунок 35. Динамика показателей функции α -клетки после бариатрической операции в группах пациентов с ожирением с и без СД 2

Инсулин и глюкагон являются ключевыми гормонами, регулирующими концентрацию глюкозы в крови. Изменение соотношения глюкагон/инсулин является сигналом для переключения активности ферментных систем, участвующих в ката- и анаболизме. В нашем исследовании был рассчитан показатель глюкагон/инсулин в базальном состоянии и площади под кривой в ходе ГТТ для обоих гормонов (рис. 36). У пациентов без СД 2 значимого изменения соотношения глюкагон/инсулин натощак после проведенной бариатрической операции не наблюдалось, в то время как у пациентов с СД 2 этот показатель возрос к 3-м месяцам наблюдения. Необходимо отметить, что в группе лиц без исходных нарушений углеводного обмена концентрация как инсулина, так и глюкагона оставалась стабильной за все время наблюдения. Повышение коэффициента глюкагон/инсулин в группе пациентов с исходным СД 2 было обусловлено снижением уровня инсулина натощак при сохранной секреции глюкагона.

В послепрандиальный период, наоборот, соотношение глюкагон/инсулин, определяемое по площади под кривой, значимо не изменялось у пациентов с СД 2, тогда как у лиц без СД 2 данный показатель постепенно снижался. В целом соотношение глюкагон/инсулин натощак и в

ходе теста с углеводной нагрузкой у пациентов с СД 2 превышало данный показатель у лиц без нарушений углеводного обмена, что отражает наличие исходной гиперглюкагонемии при СД 2 и ее сохранение даже после снижения массы тела и компенсации гликемии.

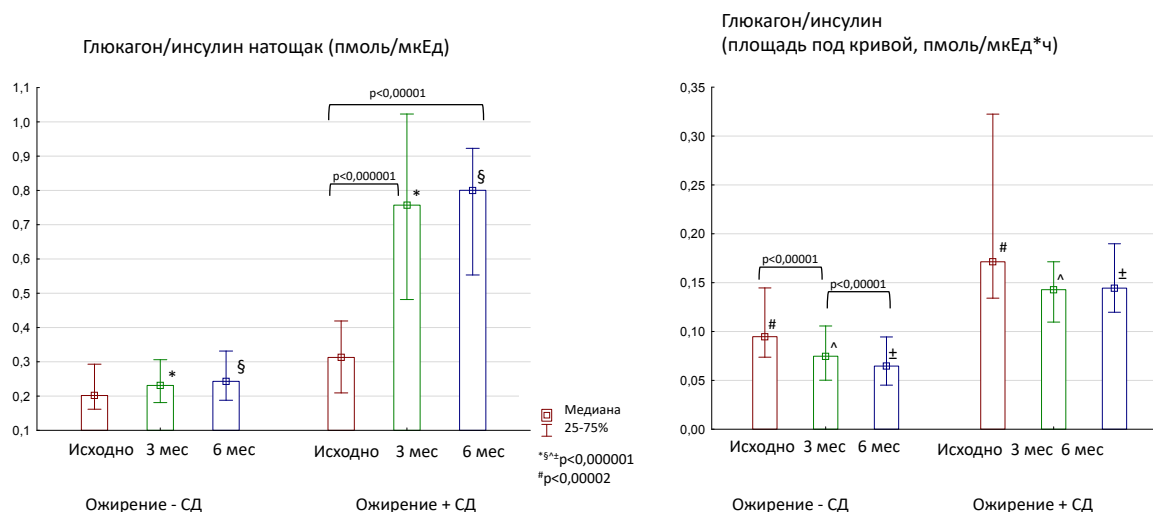


Рисунок 36. Динамика соотношения глюкагон/инсулин натошак и в ходе теста с углеводной нагрузкой после бариатрической операции в группах пациентов с ожирением с и без СД 2

3.3.4 Изменение секреции гормонов желудочно-кишечного тракта (инкретинов) в период наблюдения

В нашем исследовании мы оценивали уровень желудочно-кишечных гормонов с инкретиновой активностью (ГПП-1, ГИП), а также остальных гормонов семейства проглюкагона (глицентин, оксинтомодулин) в ходе теста с углеводной нагрузкой до и после оперативного вмешательства у пациентов без исходных нарушений углеводного обмена и с СД 2 (табл. 16 и 17).

Таблица 16. Динамика уровня желудочно-кишечных гормонов семейства проглюкагона (исходно, через 3 и 6 месяцев после бариатрической операции) в группе пациентов с ожирением **без нарушений углеводного обмена**

Показатель	Исходно	3 месяца	6 месяцев	p (<i>Friedman ANOVA</i>)
ГПП-1 натошак, пмоль/л	6,2 [5,1; 7,6]	6,8 [5,5; 8,3]	6,6 [5,8; 8,1]	<0,00001
ГПП-1 30 мин (ПГТТ, пмоль/л)	49,2 [32,7; 59,0]	50,4 [39,9; 61,8]	53,2 [39,1; 64,7]	<0,00001
ГПП-1 120 мин (ПГТТ, пмоль/л)	28,7 [17,4; 38,6]	30,9 [19,9; 40,7]	30,4 [22,7; 42,7]	<0,00001
ГПП-1, площадь под кривой (пмоль/л*ч)	68,8 [51,4; 84,8]	78,5 [54,1; 92,3]	81,9 [60,3; 99,2]	<0,00001
ГИП натошак, пг/мл	578,9 [513,8; 640,9]	515,0 [403,6; 616,5]	489,6 [326,8; 600,7]	<0,00001
ГИП 30 мин (ПГТТ, пг/мл)	584,4 [520,7; 675,2]	491,6 [358,8; 553,7]	404,0 [274,5; 501,6]	<0,00001
ГИП 120 мин (ПГТТ, пг/мл)	590,4 [528,0; 669,3]	501,0 [390,4; 584,3]	408,5 [303,8; 528,0]	<0,00001
ГИП, площадь под кривой (пг/мл*ч)	1177,8 [1072,2; 1332,1]	997,0 [738,8; 1127,1]	765,4 [605,0; 1051,8]	<0,00001
Глицентин натошак (пмоль/л)	29,4 [25,7; 36,7]	33,9 [28,8; 40,1]	35,3 [30,1; 42,1]	<0,00001
Глицентин 30 мин (ПГТТ, пмоль/л*ч)	64,3 [51,4; 77,6]	74,8 [61,3; 90,0]	82,0 [70,2; 99,6]	<0,00001
Глицентин 120 мин (ПГТТ, пмоль/л*ч)	51,0 [41,5; 68,3]	58,2 [49,9; 73,2]	65,0 [49,4; 78,6]	0,00001
Глицентин, площадь под кривой (пмоль/л*ч)	112,3 [90,8; 139,2]	129,3 [106,9; 155,6]	139,0 [117,2; 169,3]	<0,00001
Оксинтомодулин натошак, нг/мл	0,96 [0,69; 1,27]	0,97 [0,73; 1,60]	1,17 [0,94; 1,63]	<0,00001
Оксинтомодулин 30 мин (ПГТТ, нг/мл)	1,01 [0,84; 1,37]	1,31 [1,0; 1,72]	1,53 [1,05; 1,90]	<0,00001
Оксинтомодулин 120 мин (ПГТТ, нг/мл)	0,99 [0,70; 1,25]	1,06 [0,89; 1,61]	1,14 [0,91; 1,62]	0,01038
Оксинтомодулин, площадь под кривой (нг/мл*ч)	2,08 [1,61; 2,50]	2,35 [1,9; 3,28]	2,55 [2,02; 3,35]	<0,00001

Таблица 17. Динамика уровня желудочно-кишечных гормонов семейства проглюкагона (исходно, через 3 и 6 месяцев после бариатрической операции) в группе пациентов с ожирением и СД 2

Показатель	Исходно (n=42)	3 месяца (n=42)	6 месяцев (n=42)	p (<i>Friedman ANOVA</i>)
ГПП-1 натощак, пмоль/л	6,5 [5,0; 9,1]	8,1 [5,8; 10,1]	8,6 [7,0; 10,7]	0,00001
ГПП-1 30 мин (ММТ, пмоль/л)	12,7 [10,6; 14,5]	27,6 [20,0; 33,7]	29,0 [22,6; 33,0]	<0,00001
ГПП-1 120 мин (ММТ, пмоль/л)	10,4 [8,5; 12,1]	19,8 [14,9; 24,7]	21,9 [16,0; 28,6]	<0,00001
ГПП-1, площадь под кривой (пмоль/л*ч)	22,3 [19,3; 25,8]	44,9 [33,2; 55,3]	47,0 [37,3; 57,5]	<0,00001
ГИП натощак, пг/мл	603,3 [589,4; 678,5]	590,4 [541,3; 651,2]	587,1 [542,9; 648,9]	0,00002
ГИП 30 мин (ММТ, пг/мл)	599,3 [562,5; 671,1]	565,4 [522,5; 618,1]	568,8 [514,5; 617,5]	0,00570
ГИП 120 мин (ММТ, пг/мл)	614,7 [591,1; 688,4]	603,3 [552,3; 669,5]	599,5 [560,8; 642,2]	0,01789
ГИП, площадь под кривой (пг/мл*ч)	1211,4 [1160,6; 1321,2]	1170,1 [1079,2; 1277,6]	1162,3 [1077,1; 1266,8]	0,00119
Глицентин натощак (пмоль/л)	22,5 [19,1; 27,6]	36,6 [29,9; 53,3]	36,6 [31,2; 50,6]	<0,00001
Глицентин 30 мин (ММТ, пмоль/л*ч)	39,4 [33,1; 45,3]	65,3 [54,8; 94,5]	66,6 [56,9; 95,1]	<0,00001
Глицентин 120 мин (ММТ, пмоль/л*ч)	30,1 [26,9; 33,1]	51,5 [42,3; 61,9]	57,4 [48,0; 71,9]	<0,00001
Глицентин, площадь под кривой (пмоль/л*ч)	67,4 [61,4; 73,8]	113,7 [96,3; 151,5]	119,6 [100,0; 158,2]	<0,00001
Оксинтомодулин натощак, нг/мл	0,63 [0,46; 0,74]	0,97 [0,85; 1,06]	0,97 [0,9; 1,1]	<0,00001
Оксинтомодулин 30 мин (ММТ, нг/мл)	0,84 [0,47; 0,96]	1,22 [1,01; 1,43]	1,28 [1,05; 1,51]	<0,00001
Оксинтомодулин 120 мин (ММТ, нг/мл)	0,79 [0,54; 0,88]	1,11 [0,94; 1,21]	1,14 [1,01; 1,34]	<0,00001

Оксинтомодулин, площадь под кривой (нГ/мл*ч)	1,64 [1,07; 1,78]	2,27 [1,95; 2,61]	2,4 [1,99; 2,72]	<0,00001
--	----------------------	----------------------	---------------------	--------------------

Секреция ГПП-1, гормона с максимальной инкретиновой активностью, была значимо выше у лиц без СД 2 на всем протяжении исследования по сравнению с пациентами с СД 2 (рис. 37). В то же время концентрация ГИП исходно не различалась между группами, а в послеоперационном периоде была ниже у лиц без нарушений углеводного обмена по сравнению с пациентами с СД 2.

Динамика секреции двух инкретиновых гормонов также отличалась. Если площадь под кривой ГПП-1 в ходе ГТТ увеличивалась как у пациентов без СД 2, так и с СД 2, то концентрация ГИП, наоборот, снижалась. Таким образом, секреция двух основных инкретиновых гормонов после бариатрических вмешательств изменялась разнонаправленно: уровень ГПП-1 рос, уровень ГИП снижался, при этом к окончанию наблюдения через 6 месяцев после операции пациенты без исходных нарушений углеводного обмена имели максимальную концентрацию ГПП-1 и наименьшую концентрацию ГИП, а пациенты с СД 2 сохраняли относительно высокие показатели секреции ГИП при минимально восстановившемся уровне ГПП-1.

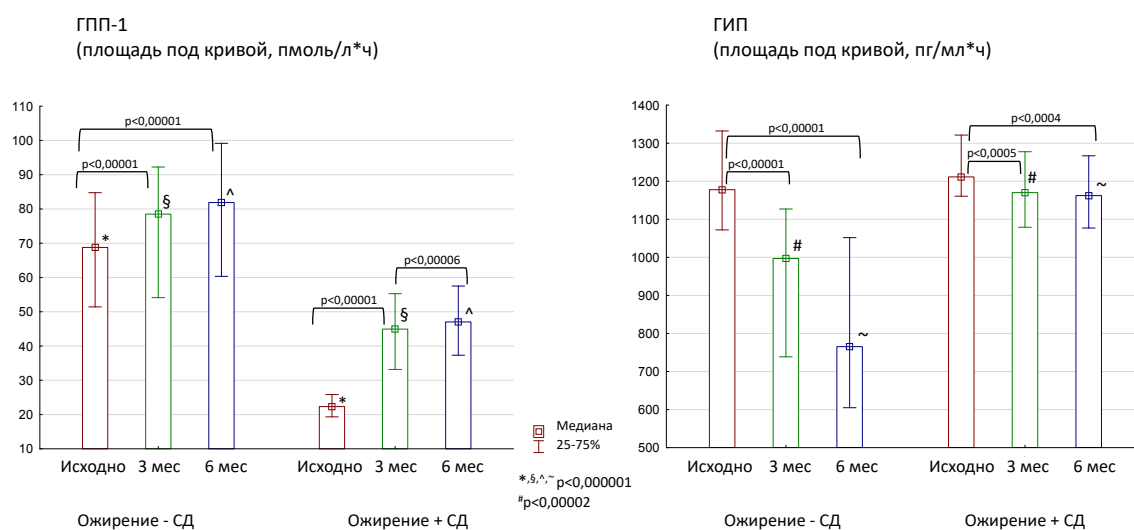


Рисунок 37. Динамика секреции ГПП-1 и ГИП (площадь под кривой) после бариатрической операции в группах пациентов с ожирением с и без СД 2

У пациентов обеих групп в ходе исходного теста базальный уровень ГПП-1 был сопоставим (рис. 38). Но в ответ на углеводную нагрузку у пациентов без СД 2 отмечался значительно более высокий прирост секреции ГПП-1 по сравнению с лицами без нарушений углеводного обмена. Через 2 часа от начала теста с углеводной нагрузкой уровень ГПП-1 у пациентов без СД 2 оставался более высоким, чем у лиц без СД 2.

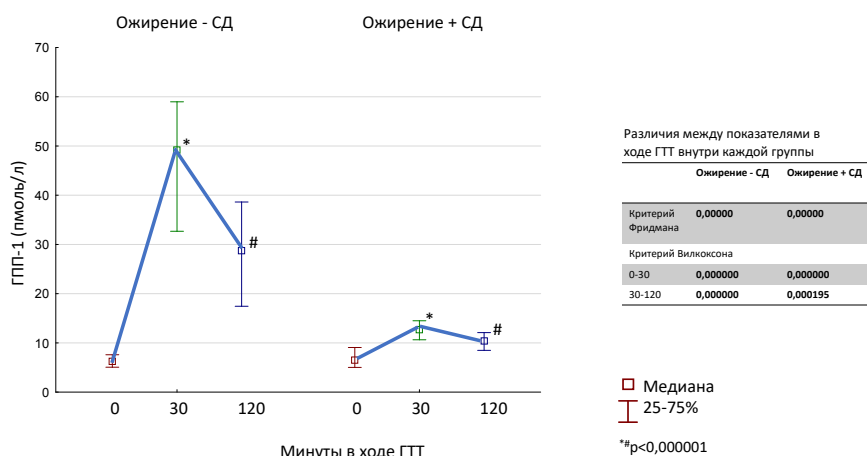
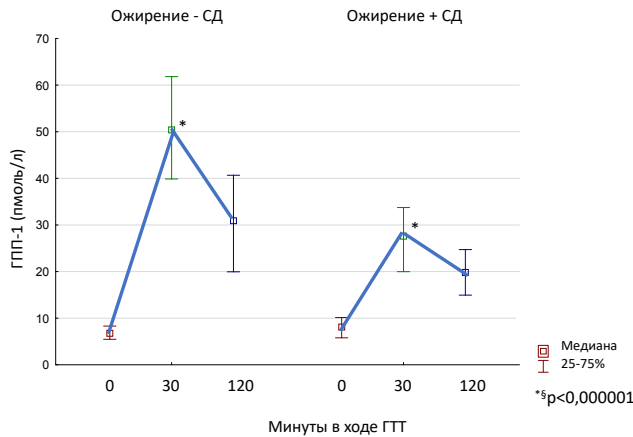


Рисунок 38. Динамика секреции ГПП-1 в ходе исходного теста с углеводной нагрузкой в группах пациентов с и без СД 2

Через 3 и 6 месяцев после проведенного оперативного лечения сохранялись более высокие значения ГПП-1 на пике углеводной нагрузки у лиц без нарушений углеводного обмена по сравнению с пациентами с СД 2 (рис. 39).

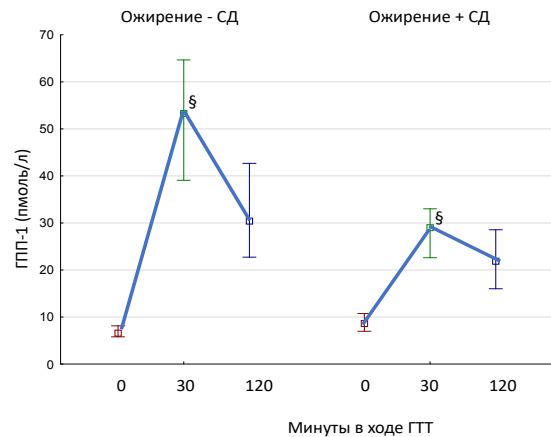
3 месяца



Различия между показателями в ходе ГТТ внутри каждой группы

	Ожирение - СД	Ожирение + СД
Критерий Фридмана	0,00000	0,00000
Критерий Вилкоксона		
0-30	0,000000	0,000000
30-120	0,000005	0,000000

6 месяцев



	Ожирение - СД	Ожирение + СД
Критерий Фридмана	0,00000	0,00000
Критерий Вилкоксона		
0-30	0,000000	0,000000
30-120	0,000001	0,000000

Рисунок 39. Динамика секреции ГПП-1 в ходе теста с углеводной нагрузкой через 3 и 6 месяцев наблюдения в группах пациентов с и без СД 2

При сравнении динамики ГПП-1 в ходе тестов более выраженный прирост секреции гормона в абсолютных значениях наблюдался у пациентов с СД 2, хотя у лиц без нарушений углеводного обмена небольшое повышение уровня ГПП-1 на 0-й, 30-й и 120-й минутах теста через 3 месяца также было значимым (рис. 40).

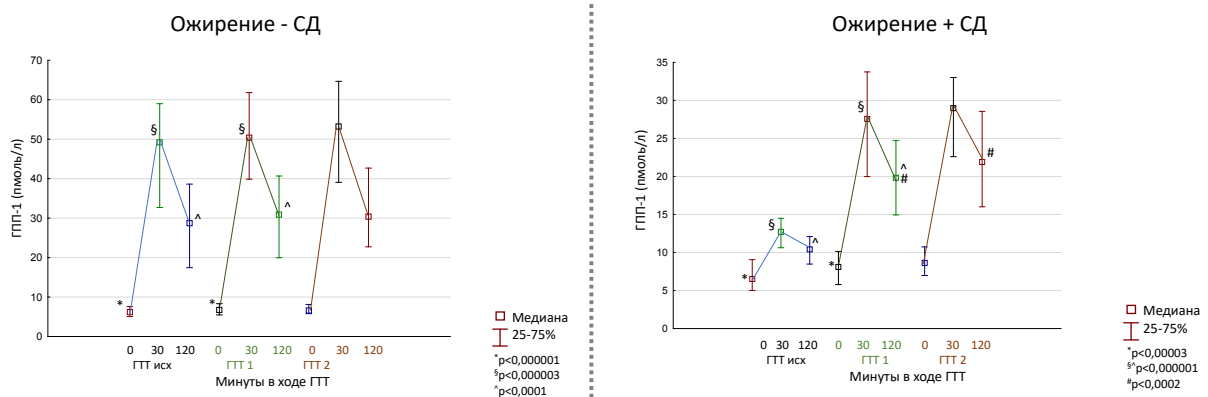


Рисунок 40. Динамика секреции ГПП-1 в ходе теста с углеводной нагрузкой исходно, через 3 и 6 месяцев в группах пациентов с и без СД 2

Секреция ГИП в исходных тестах с углеводной нагрузкой у пациентов обеих групп значимо не различалась (рис. 41). Обращает на себя внимание выраженная вариабельность значений ГИП и отсутствие видимого изменения секреции этого гормона (стимуляции или подавления) в ответ на углеводную нагрузку.

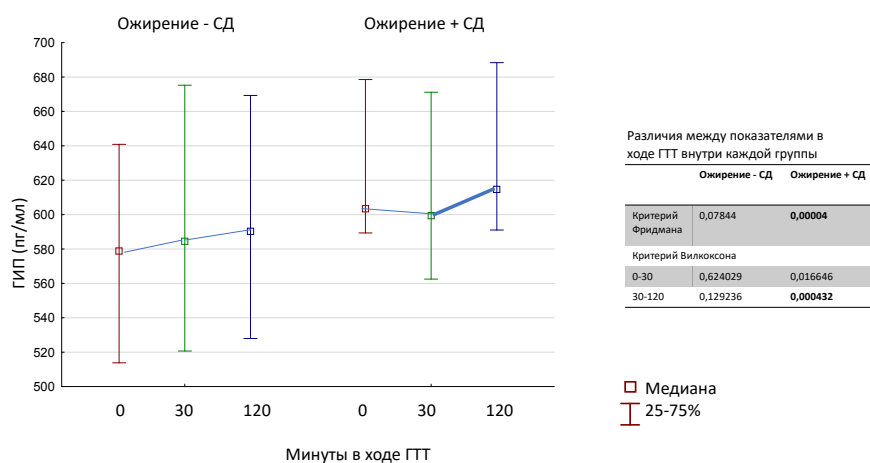
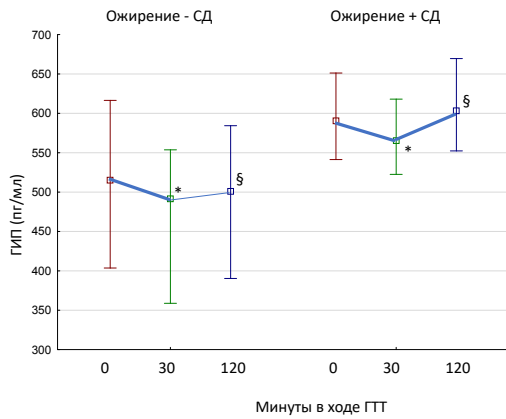


Рисунок 41. Динамика секреции ГИП в ходе исходного теста с углеводной нагрузкой в группах пациентов с и без СД 2

Через 3 и 6 месяцев после бариатрического вмешательства в обеих группах секреция ГИП на пике углеводной нагрузки подавлялась, в то время как восстановление секреции ГИП к 120-й минуте наблюдалось только в группе пациентов с ожирением и СД 2 (рис. 42). К окончанию наблюдения в группе пациентов с ожирением и СД 2 отмечалась более высокая секреция ГИП как натощак, так и в постпрандиальном периоде.

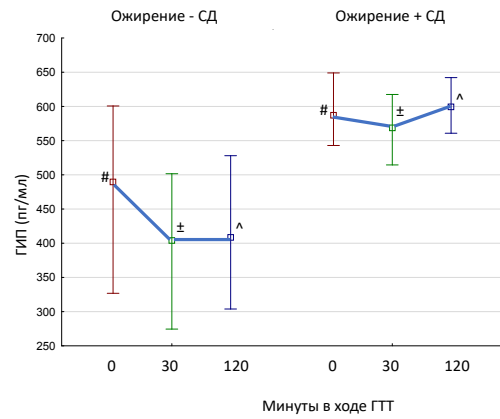
3 месяца



Различия между показателями в ходе ГТТ внутри каждой группы

	Ожирение - СД	Ожирение + СД
Критерий Фридмана	0,00001	0,00000
Критерий Вилкоксона		
0-30	0,000149	0,000001
30-120	0,007022	0,000000

6 месяцев



□ Медиана
I 25-75%
*p<0,00002
§p<0,000003
#p<0,00004
±p<0,000001

	Ожирение - СД	Ожирение + СД
Критерий Фридмана	0,00000	0,00000
Критерий Вилкоксона		
0-30	0,000129	0,000010
30-120	0,000237	0,000001

Рисунок 42. Динамика секреции ГИП в ходе теста с углеводной нагрузкой через 3 и 6 месяцев наблюдения в группах пациентов с и без СД 2

При оценке динамики уровня ГИП внутри каждой из групп следует отметить, что секреция данного гормона в группе лиц с ожирением без СД 2 постепенно снижалась к моменту окончания наблюдения (рис. 43). В группе пациентов с ожирением и СД 2 значимых различий между исходной секрецией ГИП и ее значениями через 3 и 6 месяцев обнаружено не было.

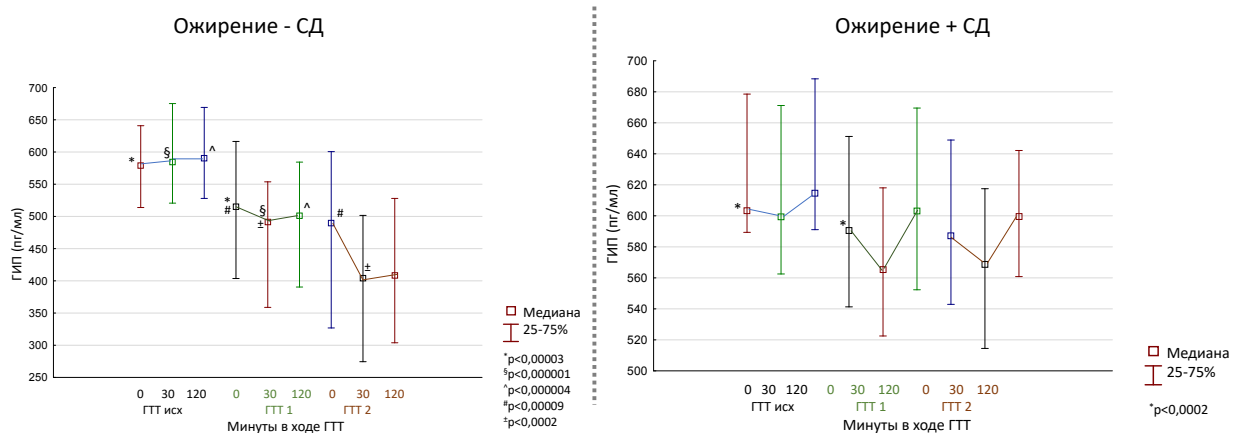


Рисунок 43. Динамика секреции ГИП в ходе теста с углеводной нагрузкой исходно, через 3 и 6 месяцев в группах пациентов с и без СД 2

Помимо оценки состояния двух главных инкретиновых гормонов (ГПП-1 и ГИП) у пациентов с длительным анамнезом ожирения и различиями в статусе углеводного обмена, мы исследовали также секрецию других гормонов семейства проглюкагона, а именно глицентина и оксинтомодулина. В обеих группах отмечался рост секреции как глицентина, так и оксинтомодулина в ответ на углеводную нагрузку к 3-м и 6-ти месяцам после оперативного вмешательства (рис. 44). Исходно в группе лиц с ожирением без СД 2 выработка обоих гормонов была более выраженной по сравнению с пациентами с СД 2, однако в ходе наблюдения выраженность секреции глицентина и оксинтомодулина в обеих группах сравнялась.

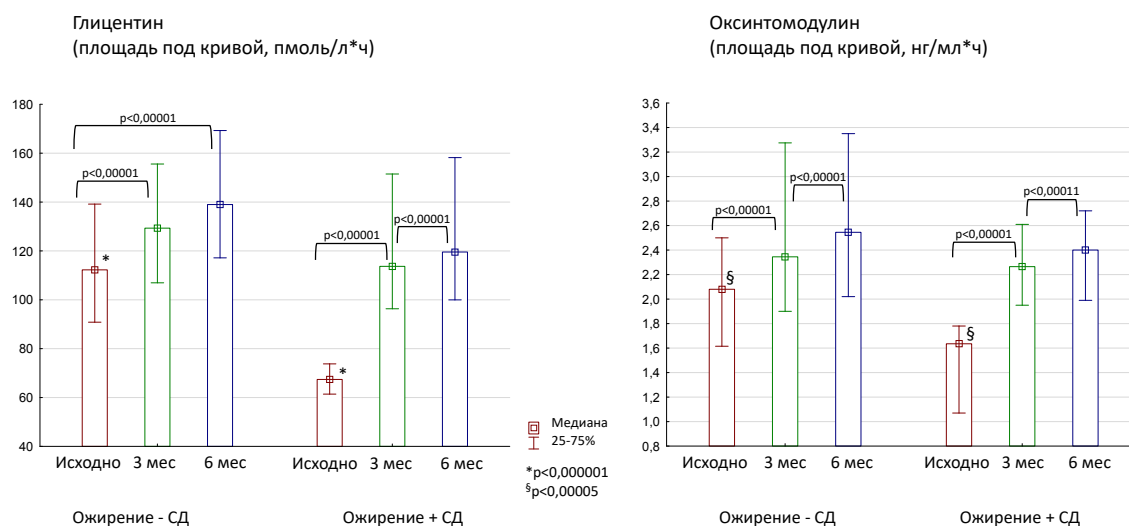


Рисунок 44. Динамика секреции глицентина и оксинтомодулина (площадь под кривой) после бариатрической операции в группах пациентов с ожирением с и без СД 2

Исходная секреция глицентина во всех точках ГТТ была была значимо выше в группе пациентов без нарушений углеводного обмена по сравнению с лицами с СД 2 (рис. 45). Паттерн секреции был одинаков в обеих группах: выработка глицентина достигала пика на 30-й минуте углеводного нагружки и снижалась к 120-й минуте.

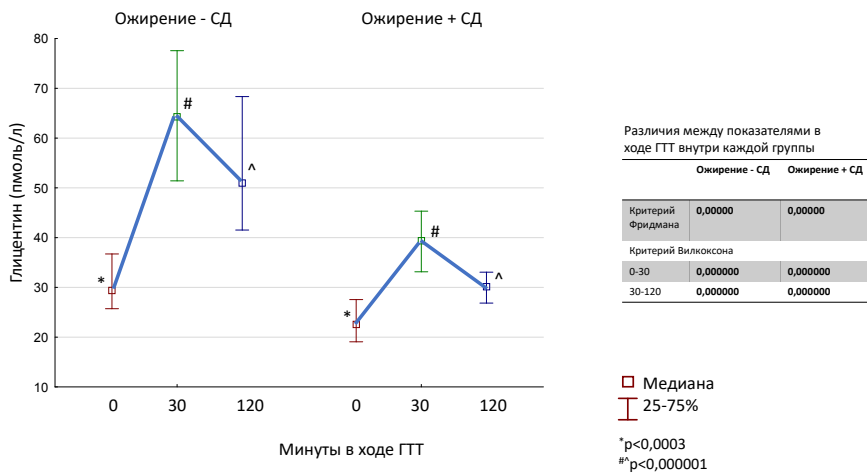


Рисунок 45. Динамика секреции глицентина в ходе исходного теста с углеводной нагрузкой в группах пациентов с и без СД 2

В послеоперационном периоде различия в секреции глицентина между двумя группами исчезали, при этом сохранялся прирост уровня данного гормона на пике углеводной нагрузки (рис. 46).

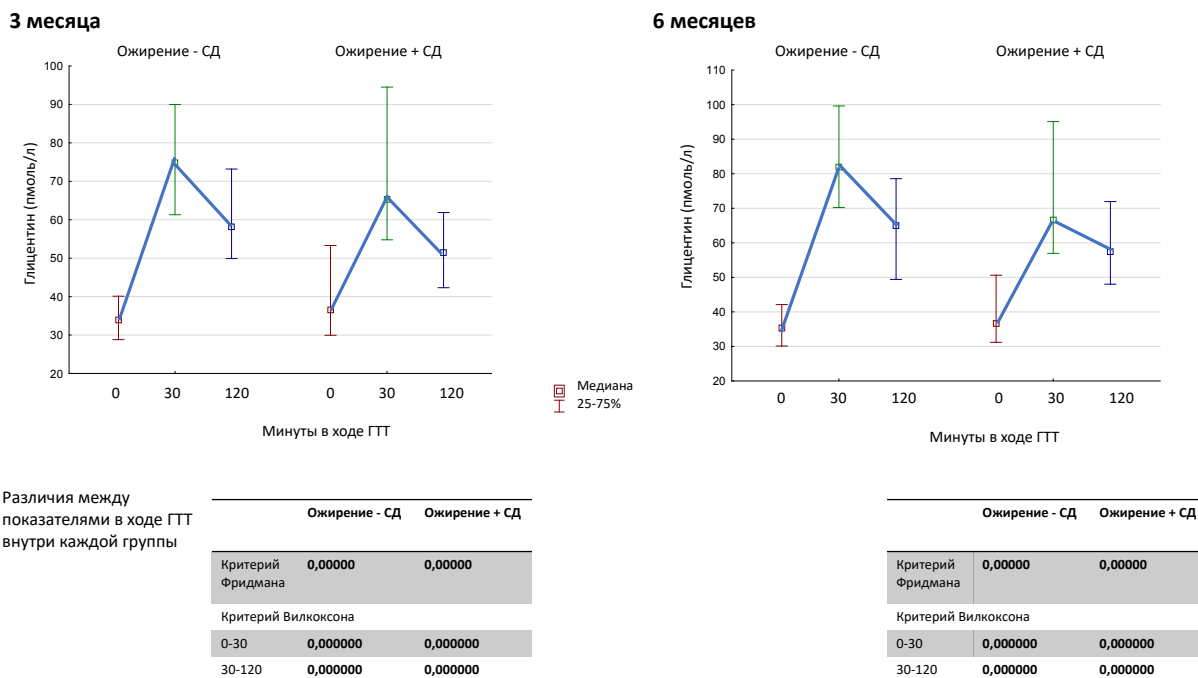


Рисунок 46. Динамика секреции глицентина в ходе теста с углеводной нагрузкой через 3 и 6 месяцев наблюдения в группах пациентов с и без СД 2

В каждой из двух групп пациентов отмечалось увеличение уровня глицентина во всех трех точках ГТТ через 3 месяца по сравнению с исходным значением (рис. 47). Изменения выработки глицентина к 6-му месяцу наблюдения были минимальны.

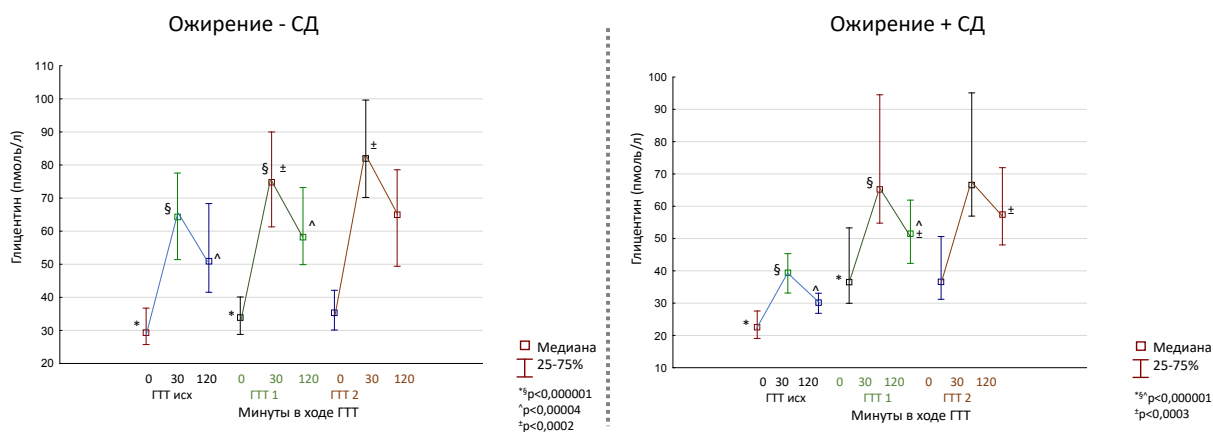


Рисунок 47. Динамика секреции глицентина в ходе теста с углеводной нагрузкой исходно, через 3 и 6 месяцев в группах пациентов с и без СД 2

Исходная концентрация окситомодулина в группе пациентов с ожирением без нарушений углеводного обмена была значимо выше по сравнению с группой пациентов с ожирением и СД 2, однако ритм секреции в ответ на углеводную нагрузку был монотонным (рис. 48).

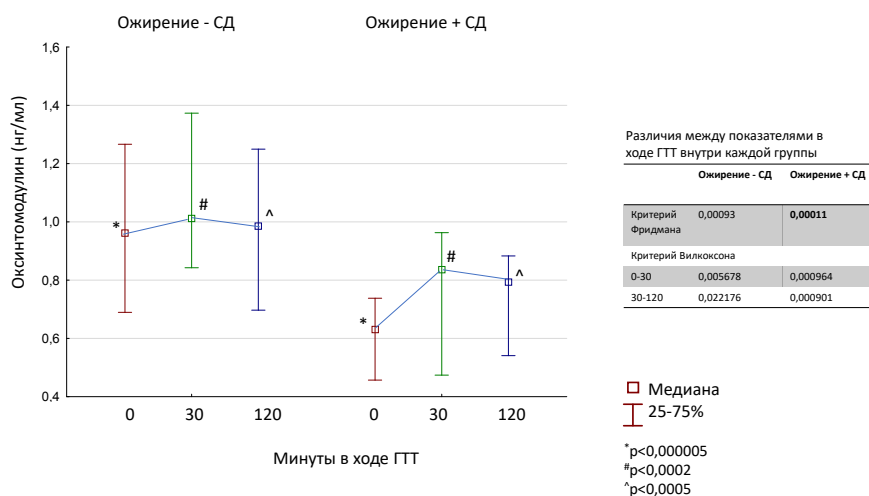


Рисунок 48. Динамика секреции окситомодулина в ходе исходного теста с углеводной нагрузкой в группах пациентов с и без СД 2

Через 3 и 6 месяцев от начала исследования у пациентов обеих групп ритм секреции оксинтомодулина приобрел пикообразную форму на 30-й минуте теста с углеводной нагрузкой (рис. 49), но значимых различий между группами не было.

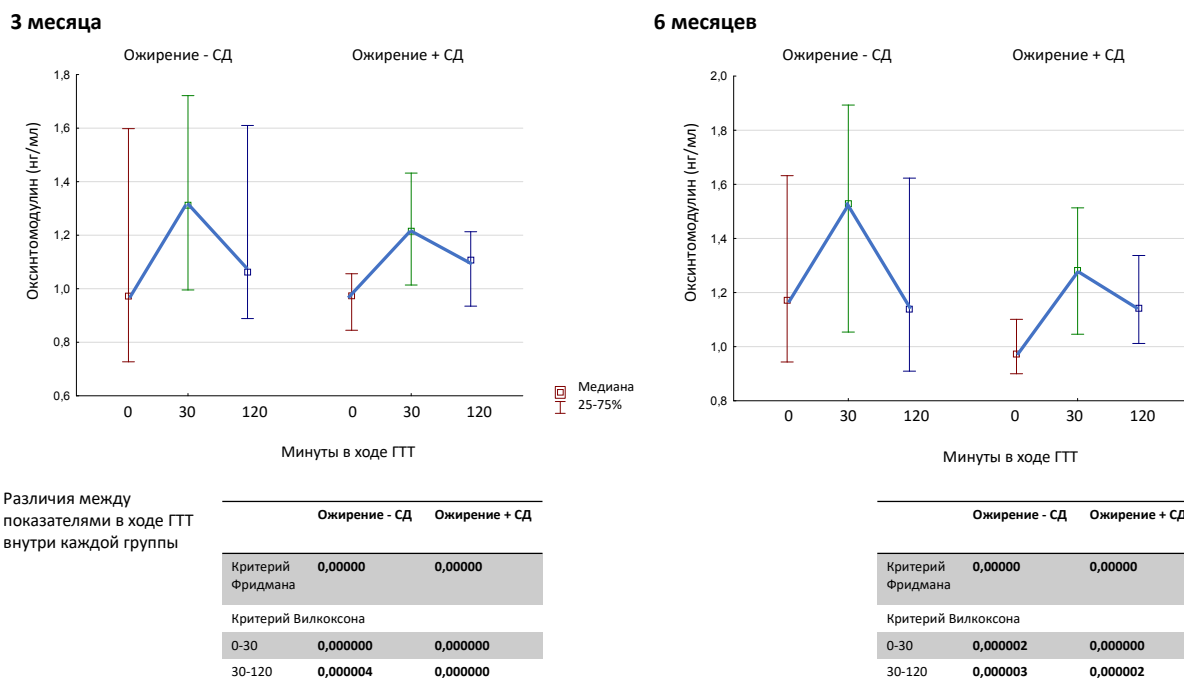


Рисунок 49. Динамика секреции оксинтомодулина в ходе теста с углеводной нагрузкой через 3 и 6 месяцев наблюдения в группах пациентов с и без СД 2

В группе пациентов без нарушений углеводного обмена секреция оксинтомодулина прирастала к 3-му месяцу наблюдения и продолжала расти к 6-му месяцу наблюдения (рис. 50). У лиц с СД 2 также наблюдался рост концентрации оксинтомодулина к 3-му месяцу, далее его уровень стабилизировался.

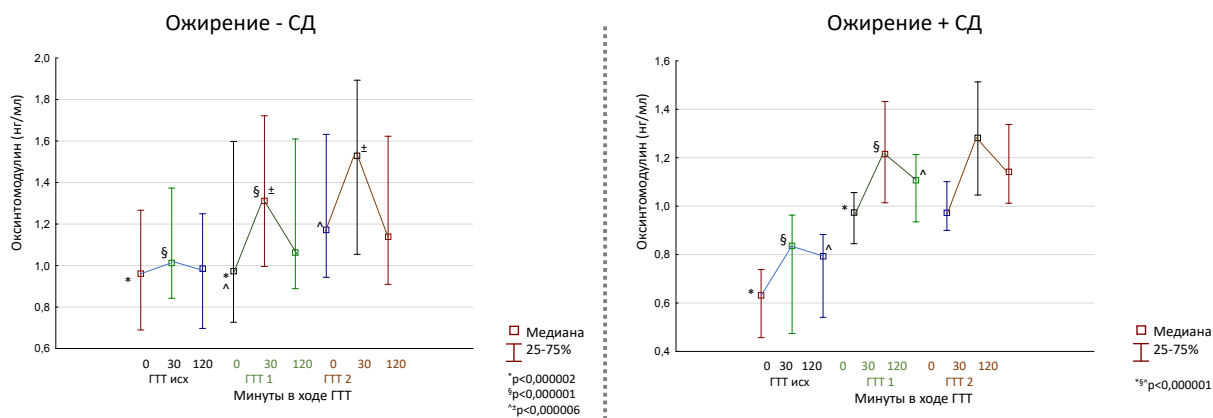


Рисунок 50. Динамика секреции оксинтомодулина в ходе теста с углеводной нагрузкой исходно, через 3 и 6 месяцев в группах пациентов с и без СД 2

3.3.5 Оценка секреции гормонов желудочно-кишечного тракта в зависимости от типа оперативного вмешательства

Пациенты, включенные в проспективную часть исследования, перенесли различные типы бариатрических вмешательств.

Разные виды операций могли вызывать неодинаковый характер изменения секреции гормонов поджелудочной железы и ЖКТ, поэтому был проведен дополнительный анализ, посвященный оценке сопоставимости гормональной секреции в группах пациентов, которым были выполнены различные хирургические вмешательства.

Как в группе пациентов без нарушений углеводного обмена, так и у лиц с СД 2 значимых различий в гормональной секреции в зависимости от выбранного типа оперативного вмешательства обнаружено не было (рис. 51-56).

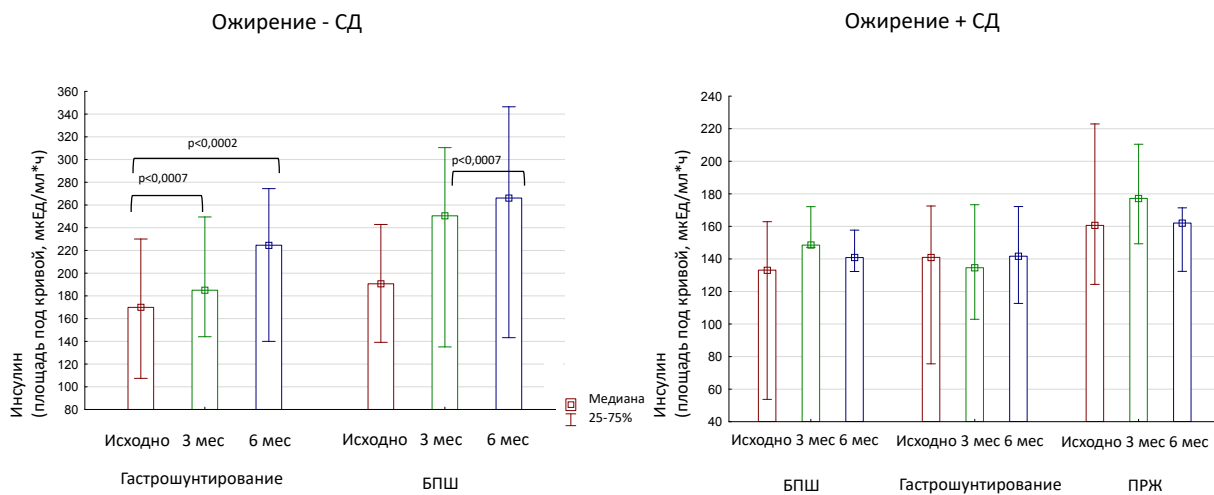


Рисунок 51. Сравнение секреции инсулина в группах пациентов с и без СД 2 в зависимости от типа оперативного вмешательства

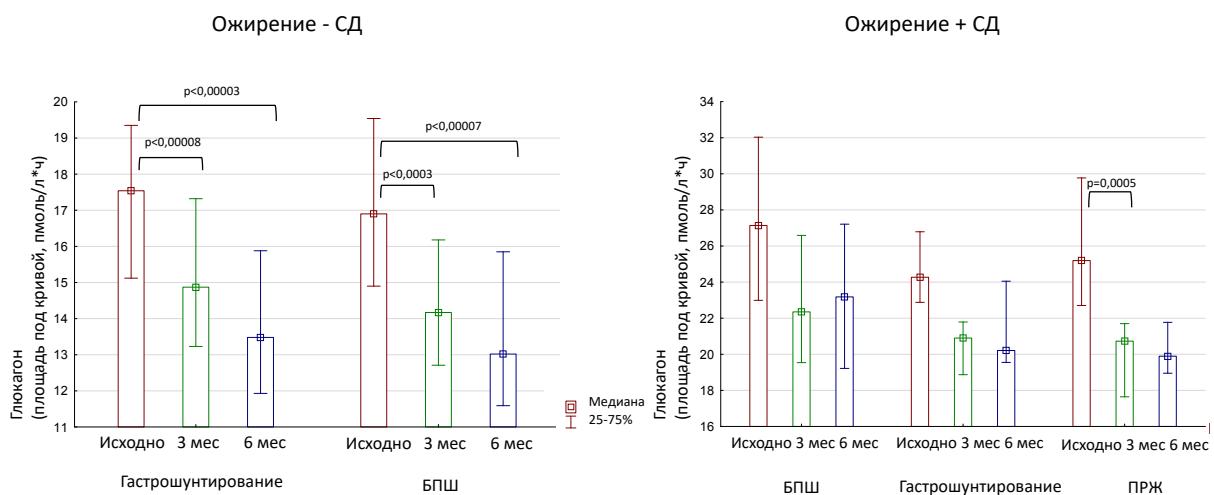


Рисунок 52. Сравнение секреции глюкагона в группах пациентов с и без СД 2 в зависимости от типа оперативного вмешательства

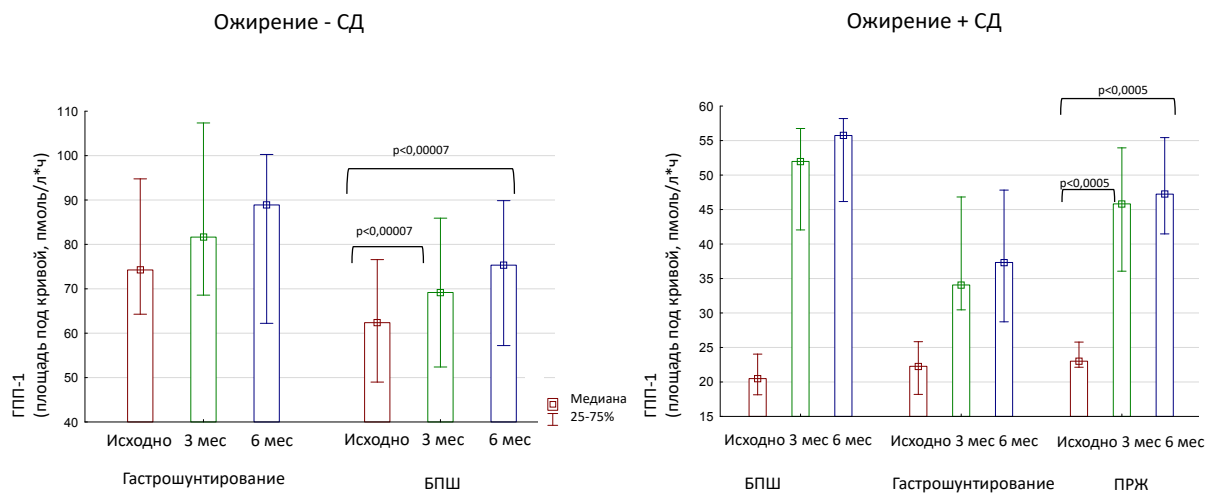


Рисунок 53. Сравнение секреции ГПП-1 в группах пациентов с и без СД 2 в зависимости от типа оперативного вмешательства

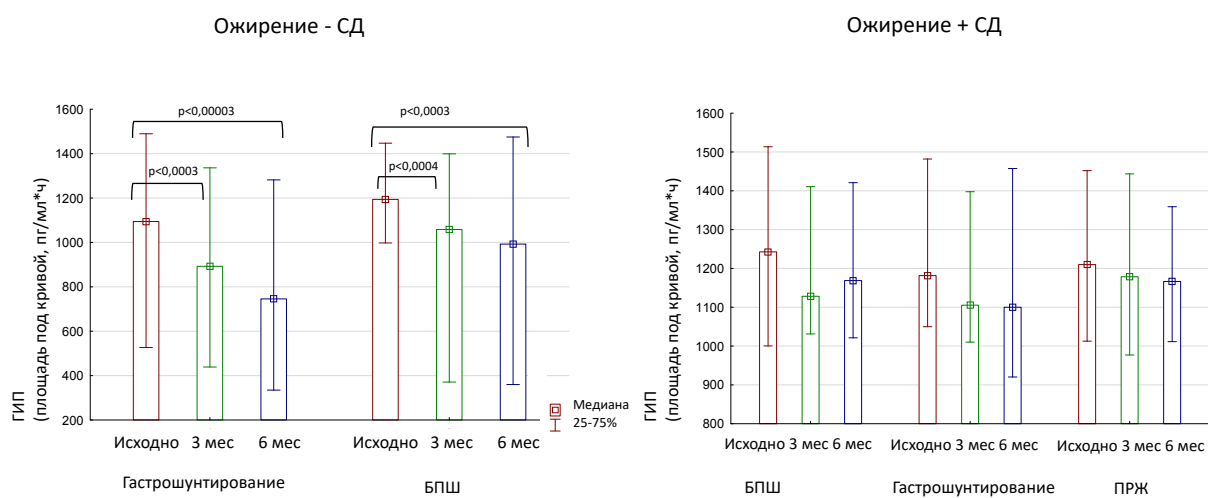


Рисунок 54. Сравнение секреции ГИП в группах пациентов с и без СД 2 в зависимости от типа оперативного вмешательства

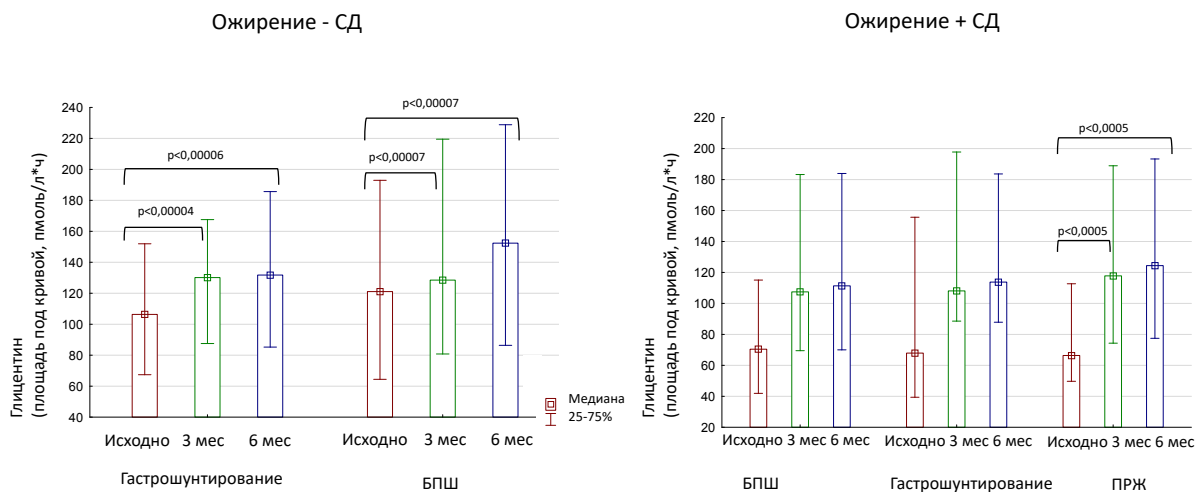


Рисунок 55. Сравнение секреции глицитина в группах пациентов с и без СД 2 в зависимости от типа оперативного вмешательства

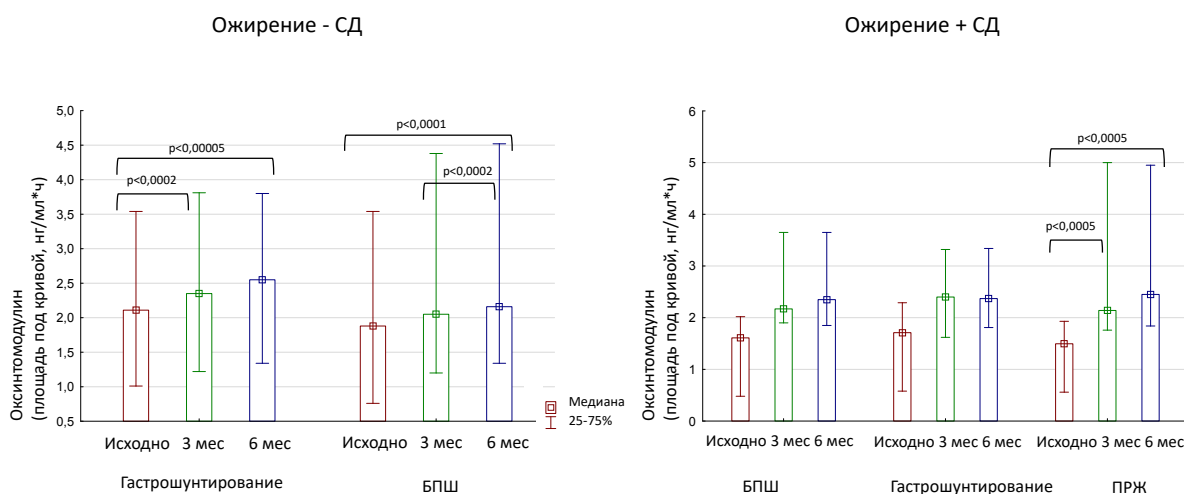


Рисунок 56. Сравнение секреции оксинтомодулина в группах пациентов с и без СД 2 в зависимости от типа оперативного вмешательства

3.3.6 Исследования на культуре клеток жировой ткани

Для проведения исследований на культуре клеток образцы подкожного и сальникового жира выделяли в ходе бариатрической операции у двух групп

пациентов с ожирением и различным статусом углеводного обмена. Для дальнейших исследований из образцов были выделены мезенхимальные стволовые клетки (МСК) и проведена их характеристика.

Полученные МСК были охарактеризованы для подтверждения мезенхимального фенотипа. В ходе выполнения работы было показано, что выделенные из биоптатов жировой ткани клетки способны к дифференцировкам в адипогенном и остеогенном направлениях. Кроме того, выделенные МСК оценивали по экспрессии характерных мезенхимальных поверхностных маркеров. Было установлено, что большая часть выделяемой популяции имеет характерный фенотип МСК CD73⁺CD90⁺CD14⁻CD31⁻CD45⁻. Полученные результаты указывают на то, что выделенные МСК как подкожной, так и висцеральной жировых тканей полностью соответствуют критериям International Society of Cellular Therapy Statement.

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

3.3.6.1 Анализ воспалительных свойств подкожной и висцеральной жировой ткани

В ходе выполнения проекта был проведен анализ структуры и клеточного состава жировой ткани исследуемых пациентов. Был проанализирован уровень воспаления в составе жировой ткани пациентов с ожирением и наличием или отсутствием СД 2. Для этого проводили оценку инфильтрации жировой ткани макрофагами (CD68 – поверхностный маркер макрофагов) и вычисляли долю CD68-позитивных клеток в составе жировой ткани (рис. 57).

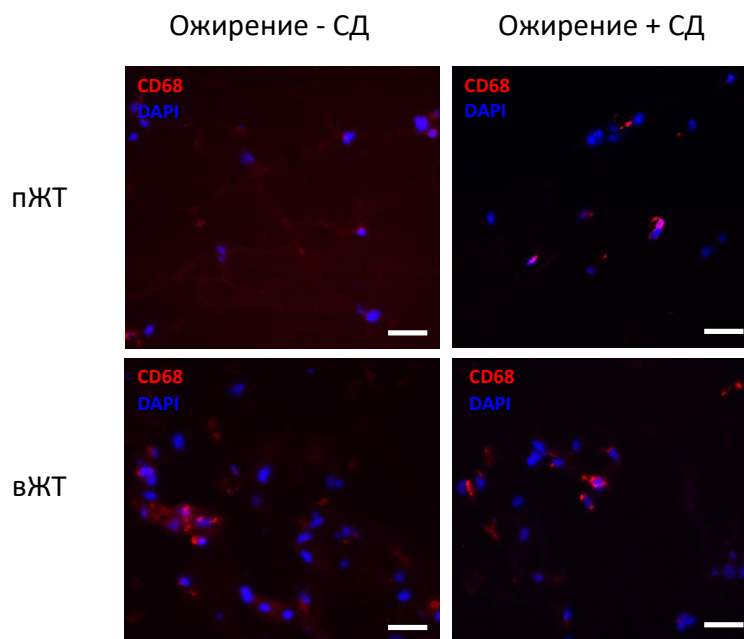


Рисунок 57. Инфильтрация подкожной и висцеральной жировых тканей пациентов с ожирением и наличием/отсутствием СД 2 CD68⁺-клетками.

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

В ходе работы нами было продемонстрировано, что пациенты с СД 2 имеют более выраженную инфильтрацию жировой ткани CD68-позитивными клетками по сравнению с пациентами без СД 2. В висцеральной жировой ткани пациенты с СД 2 имеют 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 наблюдается 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.

Однако, известно, что 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 данном иммуногистохимическом исследовании в качестве общего маркера макрофагов использовали CD68, маркер M1-макрофагов – CCR7, маркер M2-макрофагов – CD206.

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. 58).

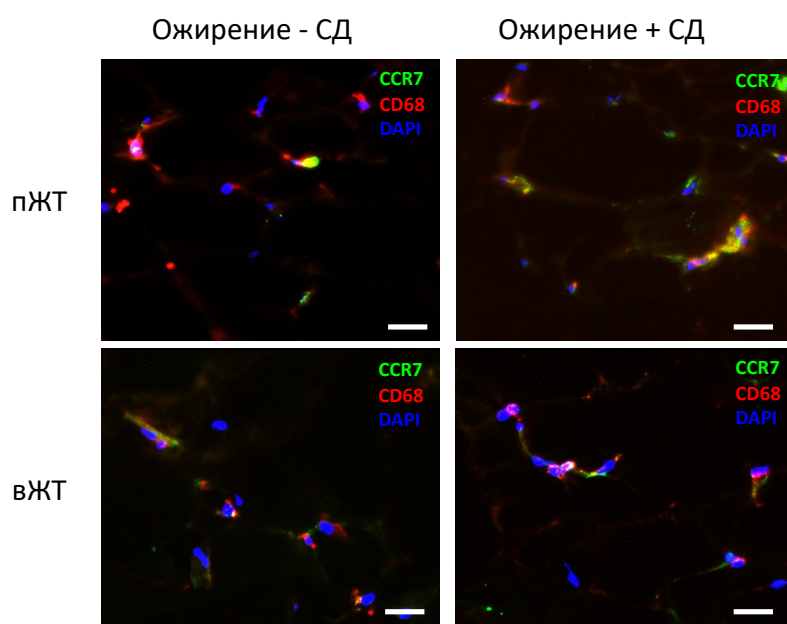


Рисунок 58. Определение M1-подобных макрофагов на срезах подкожной и висцеральной жировых тканей (панель репрезентативных фотографий срезов, окрашенных антителами против CD68, CCR7, DAPI).

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

Статистически значимых различий между инфильтрацией M1-подобными макрофагами независимо от типа жировой ткани для больных с СД 2 и нормальным углеводным обменом выявлено не было: в висцеральной жировой ткани наблюдалось $82.11 \pm 2.61\%$ CCR7/CD68-позитивных клеток в поле зрения у лиц с СД 2 против $76.37 \pm 1.28\%$ у лиц без нарушений углеводного обмена, в подкожной жировой ткани $57.81 \pm 3.15\%$ против $61.3 \pm 9.36\%$ CCR7/CD68-позитивных клеток в группах пациентов с и без СД 2 соответственно.

В подкожной и висцеральной жировых тканях пациентов без нарушений углеводного обмена почти все макрофаги имеют 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 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. 59).

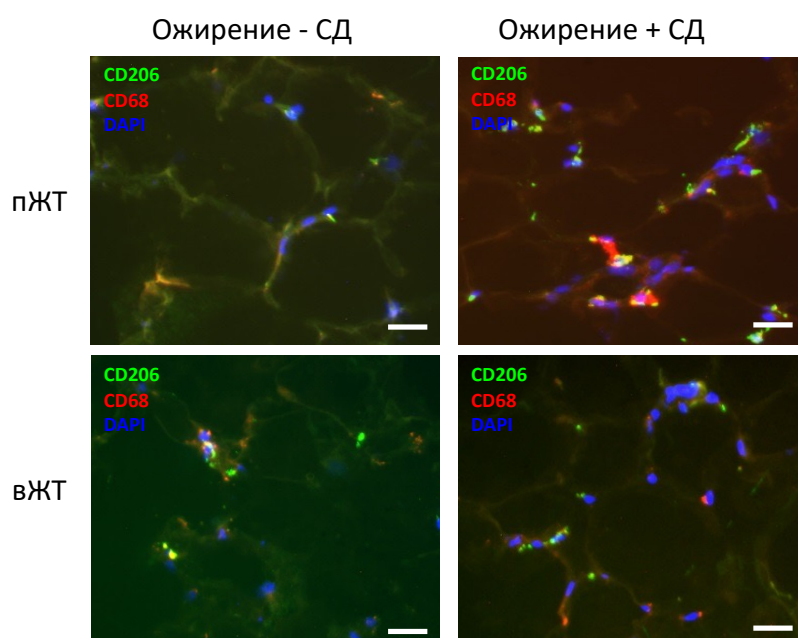


Рисунок 59. Определение M2-подобных макрофагов на срезах подкожной и висцеральной жировых тканей (панель репрезентативных фотографий срезов, окрашенных антителами против CD68, CD206, DAPI).

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

Суммируя полученные данные, можно сказать, что подкожная и висцеральная жировая ткань пациентов без нарушений углеводного обмена и с СД 2 статистически не различалась по содержанию М1-подобной популяции макрофагов. При этом почти все макрофаги жировой ткани пациентов без нарушений углеводного обмена демонстрировали противовоспалительный М2-подобный фенотип (CD68 и CD206 позитивные клетки), в то время как число М2- макрофагов у пациентов с СД 2 было значимо меньше в висцеральной жировой ткани.

Таким образом, нами отмечена более выраженная инфильтрация жировой ткани макрофагами у пациентов с СД 2 по сравнению с лицами без нарушений углеводного обмена, равноценные доли провоспалительных М1-подобными макрофагов в двух группах и меньшая доля противовоспалительных М2-подобными макрофагов при СД 2 в висцеральной жировой ткани. Эти данные говорят о более выраженном субклиническом воспалении при СД 2, наиболее выраженном в висцеральном жировом депо, что может служить основой для прогрессирования ИР.

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. Средняя площадь адипоцита в составе подкожной жировой ткани пациентов с СД 2 была почти в 1.4 раза больше, чем в подкожном депо у пациентов без нарушений углеводного обмена (2734 ± 223 мкм² для пациентов с СД 2 и 1989 ± 164 мкм мкм² для пациентов без СД 2, $p < 0.01$, критерий Манна-Уитни). Средняя площадь адипоцита в составе висцеральной жировой ткани пациентов с СД 2 была в 1.2 раза больше, чем в висцеральном депо у пациентов с без нарушений углеводного обмена (2304 ± 88 мкм² для пациентов с СД 2 и 1935 ± 92 мкм², $p < 0.05$, критерий Манна-Уитни) (рис. 60).

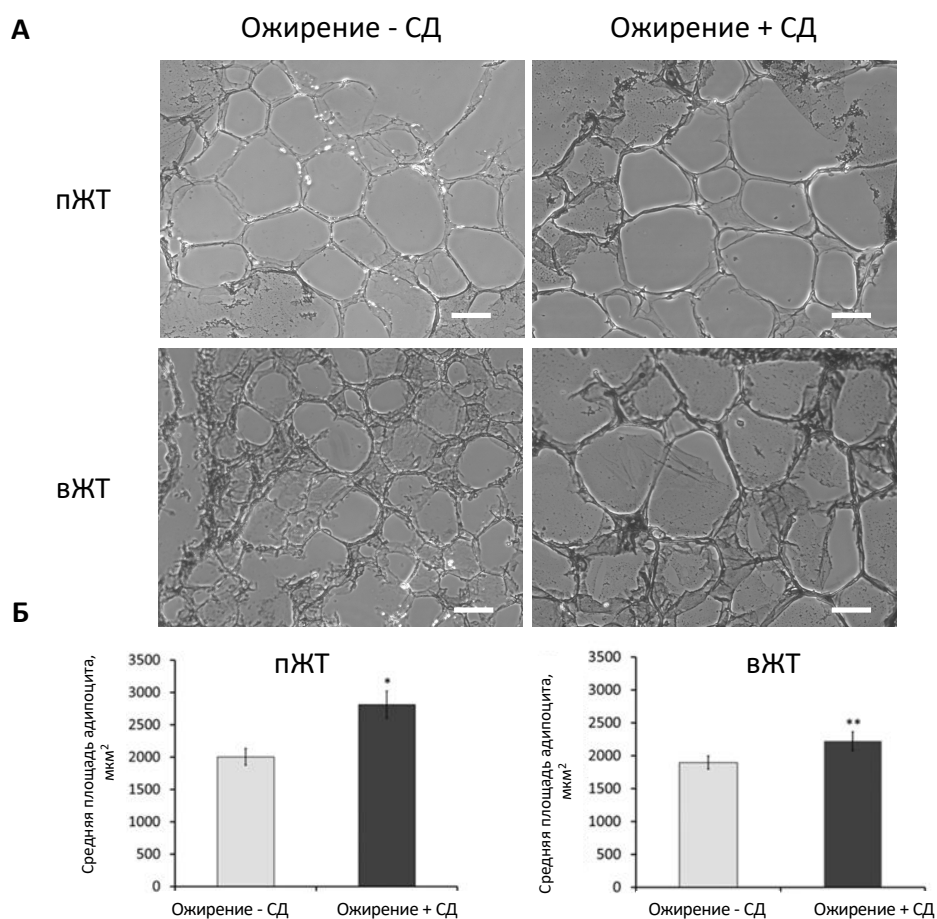


Рисунок 60. Средняя площадь адипоцита подкожной и висцеральной жировых тканей пациентов с и без СД 2. А – репрезентативная фотография адипоцитов, Б – гистограмма средней площади адипоцита подкожной и висцеральной жировых тканей.

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

Таким образом, адипоциты как в составе подкожной, так и в составе висцеральной жировых тканей гипертрофированы относительно адипоцитов в составе жировой ткани пациентов с нормогликемией.

3.3.6.2 Исследование способности МСК жировой ткани к делению и дифференцировке

Возможные причины воспаления и гипертрофии жировой ткани пациентов с ожирением и наличием/отсутствием СД 2 могут быть связаны с нарушением формирования новых адипоцитов, на что указывает гипертрофическая морфология имеющихся зрелых адипоцитов у пациентов с СД 2. Поэтому на следующем этапе нашей работы мы проводили исследование пролиферативного и адипогенного потенциалов МСК жировой ткани пациентов с ожирением и наличием или отсутствием СД 2.

Для анализа FBS-индуцированной пролиферативной активности МСК подкожной жировой ткани был использован МТТ-тест (рис. 61).

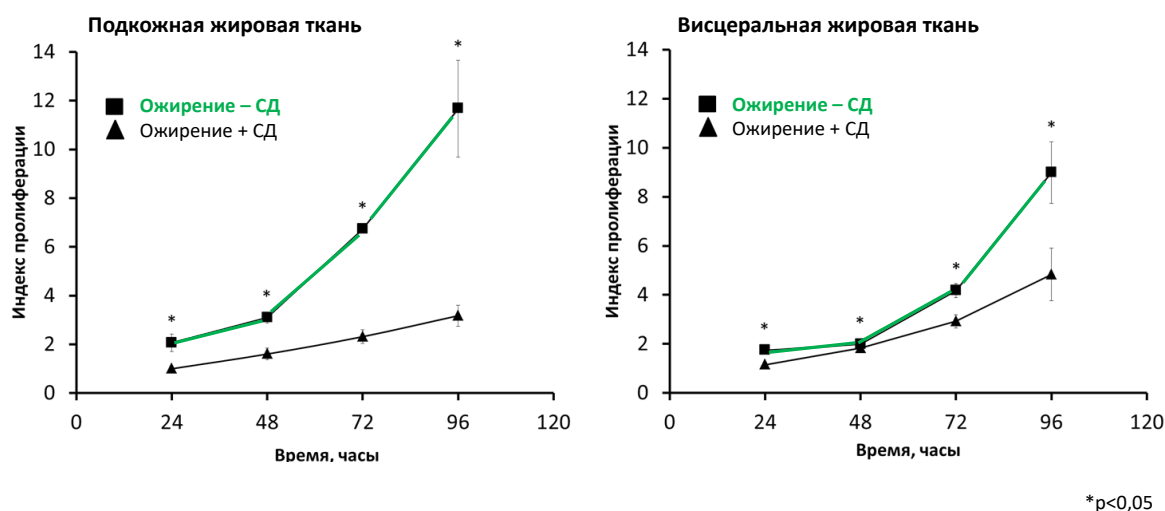


Рисунок 61. Пролиферативный потенциал МСК жировой ткани пациентов с и без СД 2.

Полученные результаты говорят о том, что МСК подкожной и висцеральной жировой ткани пациентов с СД 2 имеют более низкую способность к пролиферации по сравнению с жировой тканью лиц без нарушений углеводного обмена.

Для оценки способности МСК жировой ткани пациентов к адипогенной дифференцировке был проведен количественный анализ экспрессии генов-маркеров (*GLUT4*, *PPAR γ* , *FABP4*). Для всех исследованных генов наблюдается сниженная экспрессия в МСК подкожной и висцеральной жировой ткани пациентов с ожирением и наличием СД 2 типа по сравнению с лицами без нарушений углеводного обмена (рис. 62).

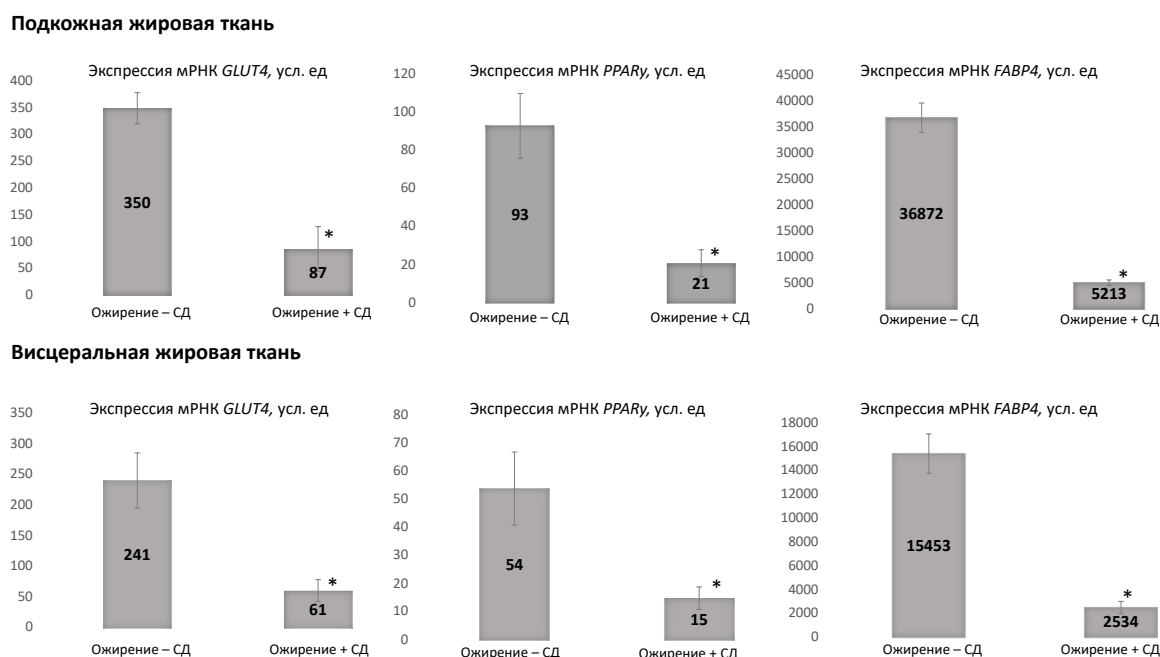


Рисунок 62. Экспрессия генов-маркеров адипогенеза на 21 день адипогенной дифференцировки.

Примечание: данные представлены в формате среднее значение \pm стандартная ошибка среднего, * $p < 0.01$, критерий Манна-Уитни.

3.3.6.3 Исследование транскриптома жировой ткани

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). На первом этапе проводилось секвенирование микроРНК, оценивались различия в экспрессии микроРНК в

двух группах. На втором этапе проводилось секвенирование тех мРНК, которые являются потенциальными мишенями для микроРНК из первого этапа. Далее была проведена валидация дифференциально экспрессирующихся микроРНК с помощью ПЦР в реальном времени с последующей валидацией предсказанных мишеней мРНК. Наконец, были построены межгенные сети взаимодействия микроРНК и потенциальных мишеней.

С помощью секвенирования микроРНК было получено в среднем 9,2 миллиона прочтений на образец. После удаления некачественных прочтений и адаптеров средний выход чистых считываний составил 8,73 миллиона (СИ 95%: 6,13-15,79 млн.). Анализ распределения длины всех образцов показал, что ожидаемый пик составляет 20-24 нуклеотидов, что соответствует размеру микроРНК, а еще один пик - 32-33 нуклеотидов. Всего было обнаружено от 345 до 679 микроРНК, причем большинство из них были представлены во всех образцах. Все микроРНК, специфичные для отдельных образцов, имели количество прочтений менее 10, что свидетельствует об их ограниченном биологическом значении.

Были обнаружены 7 дифференциально экспрессирующихся микроРНК с уровнем значимости $<0,05$ после поправки на множественность сравнений (табл. 18).

Таблица 18. Дифференциальная экспрессия микроРНК (отношение показателей в группе без нарушений углеводного обмена против показателей в группе с СД 2, скорректированное значение $p < 0.05$ и нормализованное среднее количество прочтений > 10).

NGS					qPCR		
микроРНК	Среднее количество прочтений	\log_2 -FC	Значение p	Скорректированное значение p	FC (95% доверительный интервал)	P	Q
hsa-miR-1271-5p	24	-2,00	1,47E-10	1,46E-08	Не измерялось		

hsa-miR-501-3p	102	-1,48	3,32E-09	1,75E-07	Не измерялось		
hsa-miR-125a-5p	27497	-1,36	3,41E-08	1,33E-06	0.51 (0.38-0.75)	<0.001	0.001
hsa-miR-145-3p	26	-1,29	6,89E-08	2,20E-06	Не измерялось		
hsa-miR-6803-3p	35	-1,18	1,51E-07	4,45E-06	Не измерялось		
hsa-miR-140-3p	741	-1,37	5,08E-07	1,17E-05	0.67 (0.40-1.02)	0.075	0.990
hsa-let-7e-3p	39	-1,17	6,71E-07	1,46E-05	1.22 (0.81-1.74)	0.090	0.963
hsa-miR-193b-3p	1242	-1,48	8,44E-07	1,80E-05	0.74 (0.42-1.06)	0.090	0.960
hsa-miR-3656	84	-1,19	2,11E-06	3,84E-05	Не измерялось		
hsa-miR-20a-5p	26	1,26	2,74E-06	4,62E-05	Не измерялось		
hsa-miR-320d	22	-1,15	5,72E-06	8,99E-05	Не измерялось		
hsa-miR-197-3p	7053	1,01	9,13E-06	0,0001277 4	1.47 (0.92-1.98)	<0.001	0.02
hsa-miR-485-3p	24	1,40	9,38E-06	0,0001291 7	1.01 (0.76-1.39)	0.491	1
hsa-miR-27a-3p	74	-1,40	1,06E-05	0,0001438 8	Не измерялось		
hsa-miR-23b-3p	429	1,31	1,24E-05	0,0001630 5	2.75 (2.01-3.56)	<0.001	0.012
hsa-miR-365b-5p	95	-1,50	1,29E-05	0,0001671 1	Не измерялось		
hsa-miR-1233-3p	12	-1,03	1,33E-05	0,0001698 5	Не измерялось		
hsa-miR-654-3p	47	1,22	1,73E-05	0,0002065 9	Не измерялось		
hsa-miR-204-5p	1107	-1,67	1,93E-05	0,0002127 8	0.18 (0.08-0.28)	<0.001	<0.001
hsa-miR-320a	4127	-1,15	1,95E-05	0,0002127 8	0.50 (0.34-0.77)	<0.001	0.015
hsa-miR-511-5p	15	-1,26	1,97E-05	0,0002128 4	Не измерялось		
hsa-miR-107	291	-1,20	2,20E-05	0,0002317 6	0.96 (0.71-1.23)	0.266	1
hsa-miR-483-5p	92	-1,05	2,37E-05	0,0002414	Не измерялось		
hsa-miR-98-5p	1541	-1,13	5,24E-05	0,0004528 8	0.95 (0.69-1.27)	0.801	1

hsa-miR-502-3p	29	-1,09	5,68E-05	0,0004798 7	Не измерялось		
hsa-miR-1910-5p	10	-1,26	5,68E-05	0,0004798 7	Не измерялось		
hsa-miR-192-5p	46	-1,02	7,10E-05	0,0005673 5	Не измерялось		
hsa-miR-1275	16	-1,13	7,93E-05	0,0006224 2	Не измерялось		
hsa-miR-375	17	-1,30	8,64E-05	0,0006725 7	Не измерялось		
hsa-miR-432-5p	47	-1,12	9,26E-05	0,0007133 5	Не измерялось		
hsa-miR-1247-5p	275	-1,07	9,83E-05	0,0007393 9	0.94 (0.70-1.21)	0.422	1
hsa-miR-296-5p	15	-1,11	0,0001422 9	0,0009872 1	Не измерялось		
hsa-miR-99b-5p	10114	-1,01	0,0002011	0,0013042	0.42 (0.29-0.64)	<0.001	0.01
hsa-miR-125b-5p	4621	-1,02	0,0002162 1	0,0013922	0.46 (0.31-0.65)	<0.001	0.01
hsa-miR-122-5p	99	-1,71	0,002591	0,010171	Не измерялось		
hsa-miR-196a-5p	11	-1,01	0,0034576	0,012631	Не измерялось		

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 TGFβ.

Значительная часть дифференциально экспрессирующихся микроРНК, которые мы обнаружили на первом этапе данного исследования, связаны преимущественно с процессами экспрессии и трансляции генов (табл. 19).

Таблица 19. Биологические пути, в которых участвуют микроРНК с изменением экспрессии.

Аннотация реактома	Значение p	микроРНК	
Экспрессия генов	7.55e-16		
Процессы трансляции	3.09e-7		
Процессы транскрипции	4.61e-7	hsa-miR-125a-5p	↓
Инициация трансляции у эукариот	4.61e-7	hsa-miR-197-3p	↑
Клеточный ответ на стресс	5.36e-7	hsa-miR-23b-3p	↑
Регуляция трансляции	0.00000656	hsa-miR-204-5p	↓
Терминация трансляции у эукариот	0.0000395	hsa-miR-320a	↓
Активация матричных металлопротеиназ	0.00252	hsa-miR-99b-5p	↓
		hsa-miR-125b-5p	↓

На втором этапе в результате секвенирования РНК было сгенерировано в среднем 47 миллионов прочтений на образец, в общей сложности 552 гена мРНК имели различающуюся экспрессию с порогом значимости скорректированного p-значения $\leq 0,05$. Для последующего анализа были выбраны гены, являющиеся потенциальными мишенями для микроРНК из предыдущего шага (табл. 20).

Таблица 20. Дифференциальная экспрессия РНК (отношение показателей в группе без нарушений углеводного обмена против показателей в группе с СД 2, скорректированное значение $p < 0.05$, фильтр по микроРНК из таблицы 18).

NGS					qPCR		
Ген	log ₂ -FC	log ₂ -CPM	Значение p	Скорректированное значение p	FC (95% доверительный интервал)	P	Q
MMP3	1.0949	11.04	2.645e-15	2.802e-13	2.01 (1.27–2.77)	0.01	0.2

MAP3K4	-1.3832	5.0522	3.3406e-22	6.7082e-20	0.97 (0.71–1.22)	0.851	1
MMP9	1.9675	5.0787	1.0279e-30	4.6098e-28	1.92 (1.51–2.31)	< 0.001	0.004
LCPI	-1.4863	2.5819	1.9456e-24	5.0339e-22	0.92 (0.72–1.11)	0.305	1
SLCO2B1	-2.2529	4.6522	2.6046e-47	2.503e-44	1.05 (0.80–1.31)	0.535	1
CCR8	1.8177	6.5563	2.8466e-34	1.6651e-31	1.29 (0.97–1.67)	0.002	0.051
TNFAIP8	-3.1689	-0.9217	1.0596e-08	3.108e-07	0.79 (0.52–1.06)	0.119	1
IL6	1.3176	6.4039	7.7424e-16	8.7535e-14	5.02 (1.79–8.55)	0.019	0.272
MMP2	2.0971	6.9353	1.6109e-49	1.8509e-46	1.29 (1.11–1.46)	0.002	0.042
MMP26	2.0712	6.8292	8.4676e-45	7.5949e-42	1.29 (1.11–1.46)	0.002	0.042
MMP11	2.85	5.4909	2.7054e-75	7.2798e-72	1.44 (1.22–1.67)	< 0.001	0.007
PPARD	1.4987	6.2344	1.0399e-23	2.5439e-21	1.07 (0.85–1.30)	0.424	1
TLR4	-1.1747	3.3433	1.7196e-14	1.6765e-12	0.77 (0.47–1.09)	0.129	1
PPARA	1.521	7.3269	2.1423e-23	5.0565e-21	1.57 (0.40–2.77)	0.305	1
SPP1	-1.8063	4.8456	4.8303e-40	3.2493e-37	0.61 (0.31–0.95)	0.02	0.264
SMAD4	3.0695	8.8106	6.8842e-90	2.3155e-86	3.24 (1.98–4.50)	0.002	0.040
TNFRSF10B	-2.1865	7.1604	1.2252e-48	1.268e-45	0.91 (0.57–1.29)	0.621	1
MNDA	1.1954	5.9417	4.2764e-20	7.2829e-18	1.61 (1.20–2.09)	0.005	0.109
SMAD6	1.7322	3.5973	1.1503e-29	4.8363e-27	1.74 (1.35–2.17)	0.017	0.225
NCKAP1L	-1.5855	4.8048	6.1667e-28	2.2423e-25	0.91 (0.55–1.29)	0.621	1
GNA15	1.0761	6.1117	3.4673e-13	2.7121e-11	1.49 (0.82–2.09)	0.129	1
RAC2	-1.6411	4.7248	1.8157e-24	4.7899e-22	0.91 (0.71–1.16)	0.495	1
ITGAM	-1.1835	4.9845	7.0612e-14	6.051e-12	0.89 (0.69–1.07)	0.19	1

EVI2A	-1.3384	4.9029	1.7313e-24	4.6587e-22	0.74 (0.52–1.01)	0.039	1
EVI2B	-2.0751	4.7494	5.2879e-37	3.2338e-34	0.82 (0.55–1.17)	0.324	1
TUBB2A	-2.1838	5.2821	1.1921e-44	1.0024e-41	0.91 (0.64–1.27)	0.646	1
MC1R	-1.0712	4.9648	1.341e-14	1.3169e-12	0.79 (0.52–1.24)	0.524	1
KIT	-1.1804	2.064	4.7361e-23	1.08e-20	0.71 (0.49–1.09)	0.129	1
RUNX2	1.297	4.6497	2.011e-17	2.7329e-15	1.5 (1.29–1.70)	< 0.001	0.001
FBXL13	-2.4842	4.6851	1.2466e-51	2.0965e-48	0.95 (0.70–1.22)	0.596	1
ITGB2	-1.2392	4.8629	5.3749e-16	6.2882e-14	0.91 (0.72–1.19)	0.212	1

Валидация с помощью анализа ПЦР в реальном времени подтвердила только шесть генов, экспрессия которых показала существенную разницу: MMP9, MMP2, MMP26, MMP11, SMAD4, RUNX2. Все эти гены имели повышенный уровень экспрессии у пациентов с ожирением, страдающих СД 2. Большинство генов принадлежат к семейству цинковых металлопротеиназ, вовлеченных в деградацию внеклеточного матрикса: MMP9, MMP2, MMP26, MMP11. Оставшаяся часть генов принадлежала сигнальному пути TGF β /BMP: SMAD4 и RUNX2.

На рисунке 63 показана связь между валидированными микроРНК и их целями. MiR-99b-5p отсутствует на рисунке, так как у этой микроРНК не было валидированных мишеней со значительными различиями в экспрессии. Большинство мишеней принадлежат miR-204-5p и miR125b-5p.

К 6 месяцам наблюдения после операции на фоне снижения массы тела пациенты обеих групп значимо не отличались по ИМТ, выраженности висцерального ожирения и ИР, имели сопоставимые показатели компенсации углеводного обмена, однако в группе лиц с СД 2 по сравнению с лицами без нарушений углеводного обмена сохранялось снижение базальной и постпрандиальной секреции инсулина, более высокие значения глюкагона и низкие значения ГПП-1 в ответ на углеводную нагрузку. Таким образом, снижение веса у двух групп пациентов с ожирением приводило к равнозначному восстановлению чувствительности к инсулину по результатам гиперинсулинемического эугликемического клэмп-теста, но не позволяло восстановить нормальную функцию альфа- и бета-клеток поджелудочной железы и инкретиновых гормонов у лиц с СД 2.

Для понимания исходных различий в выраженности висцерального ожирения и ИР между двумя группами пациентов были проведены исследования, направленные на изучение биологии жировой ткани при СД 2. Суммируя полученные результаты по морфологии дифференцированных адипоцитов, экспрессии генов-маркеров адипогенеза, а также транскриптомного анализа можно сказать, что МСК жировой ткани пациентов с СД 2 имеют сниженную пролиферативную активность и повышенный воспалительный уровень как в подкожной, так и в висцеральной жировых тканях. Данные изменения физиологии МКС жировой ткани ассоциированы с гипертрофией зрелых адипоцитов, а также склонностью жировой ткани пациентов с СД 2 к развитию фиброза.

Данные изменения могут способствовать нарушению формирования новых жировых депо, что ведет к развитию ИР 2, подтвержденной данными гиперинсулинемического эугликемического клэмп-теста.

3.4 Результаты экспериментального исследования

Целью четвертого этапа исследования стало создание модели увеличения массы тела у экспериментальных животных (крыс линии Sprague-Dawley), а также изучение последовательности нарастания патогенетических изменений на фоне увеличения массы тела.

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

3.4.1 Динамика веса и гликемии у животных

За 14 недель эксперимента животные обеих групп значимо прибавили массу тела (табл. 21).

Таблица 21. Вес животных (г) на протяжении эксперимента

Группа	n	Исходно	n	7 недель	n	14 недель
Контроль	10	403 [355; 426]	10	435 [381; 452]	9	473 [442; 493]
Высококалорийное питание	10	395,5 [366; 402]	10	520 [503; 576]	10	594 [552; 640]

Примечание (здесь и далее в таблицах раздела): данные представлены в виде медиан и интерквартильного размаха [Q1; Q3]. N- число животных в каждой группе на момент проведения теста

Статистически значимый прирост массы тела отмечался в обеих группах через 7 недель по сравнению с исходными значениями; в дальнейшем также наблюдалось увеличение массы тела животных в обеих группах (в интервале от 7-ми до 14-ти недель наблюдения). При этом животные группы высококалорийного питания уже через 7 недель значимо опережали животных

контрольной группы по весу и эти различия сохранялись на 14-й неделе эксперимента (рис. 64).

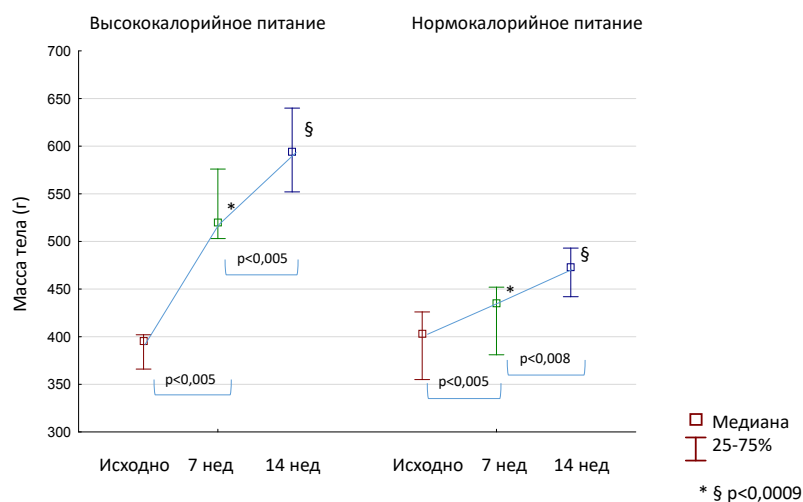


Рисунок 64. Динамика массы тела животных в группах нормо- и высококалорийного питания

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)

На рисунке 65 представлена динамика гликемии в обеих группах в ходе исходного ГТТ, когда обе группы животных получали одинаковый рацион питания. Уровень глюкозы плазмы значительно повышался к 10-й минуте теста, оставался на стабильном уровне с 10-й по 30-ю минуту теста и значительно снижался к 60-й минуте ГТТ.

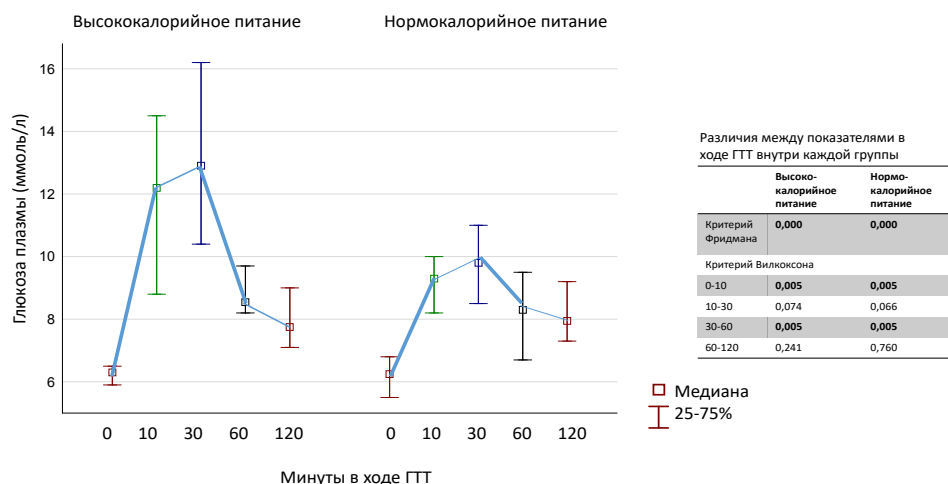


Рисунок 65. Различия в динамике гликемии в группе нормо- и высококалорийного питания в исходном ГТТ

Примечание: жирными линиями выделены временные интервалы, в ходе которых наблюдалось статистически значимое изменение показателя

При сравнении динамики гликемии, оцененной по площади под кривой в ходе ГТТ, в обеих группах отмечалась тенденция к развитию гипергликемии по мере увеличения массы тела животных (табл. 22).

Таблица 22. Гликемия в ходе ГТТ (площадь под кривой, ммоль/л x час)

Группа	n	ГТТисх	n	ГТТ1	n	ГТТ2
Контроль	10	17,7 [15,1; 19,5]	9	17,9 [17,8; 21,5]	9	21,6 [20,3; 23,2]
Высококалорийное питание	10	18,6 [16,8; 23,7]	10	27,5 [19,9; 30,8]	10	31,1 [23,0; 36,8]

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. 66). К 14-й неделе гликемия в группе высококалорийного питания продолжала значительно увеличиваться по сравнению с 7-й неделей эксперимента, а также существенно

превышала площадь под гликемической кривой в контрольной группе на 14-й неделе.

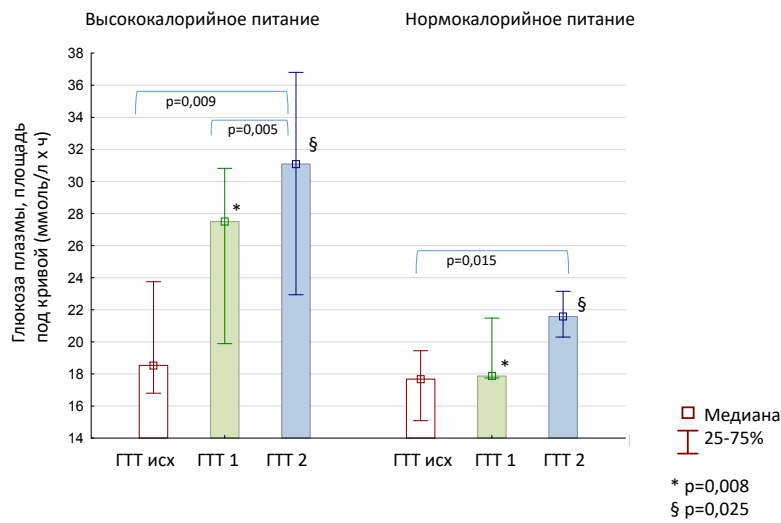


Рисунок 66. Динамика гликемии (площадь под кривой) в ходе ГТТ в группах высоко- и нормокалорийного (контроль) питания

При проведении сравнения уровня гликемии в ходе ГТТ (0, 10, 10, 60, 120 минут) у животных, получающих нормокалорийное питание, не отмечалось различий в уровне гликемии натощак (критерий Фридмана $p=0,131$). Некоторое нарастание гликемии отмечалось в постпрандиальный период, в частности на 60-й минуте в ГТТ1 по сравнению с ГТТисх, а также на 10-й минуте теста в ГТТ2 по сравнению с ГТТ1 (рис. 67).

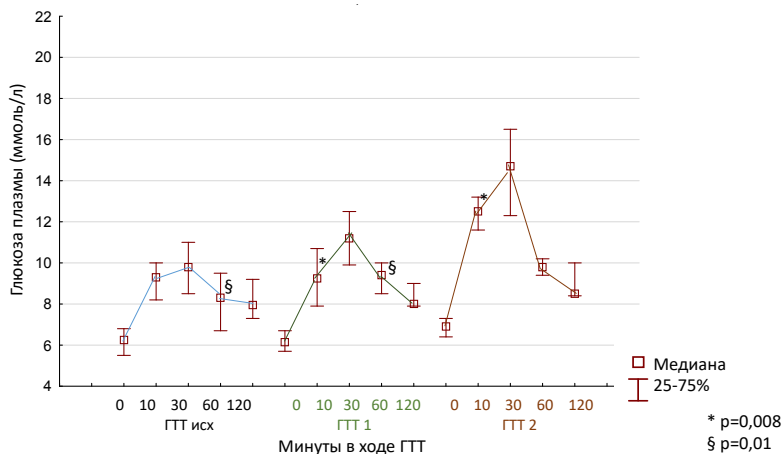


Рисунок 67. Динамика гликемии в ходе ГТТ в группе контроля

В группе животных, получавших высококалорийное питание, наблюдалось нарастание гипергликемии в постпрандиальный период при сохранении сопоставимых значений гликемии натощак во всех трех ГТТ (рис. 68).

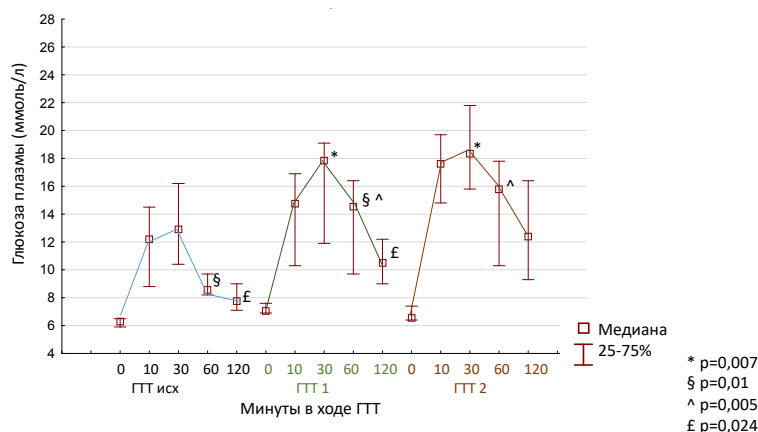
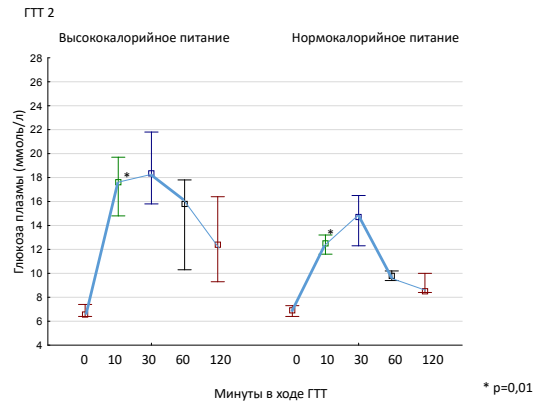
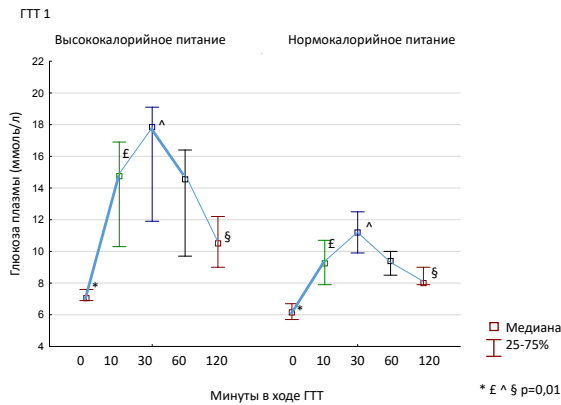


Рисунок 68. Динамика гликемии в ходе ГТТ в группе высококалорийного питания

Различия в гликемических кривых между группами высоко- и нормокалорийного питания на 7-й и 14-й неделях эксперимента (в ГТТ 2 и 3) представлены на рисунке 69. В обеих группах сохранялся исходный профиль изменения гликемии в виде увеличения уровня глюкозы к 10-й минуте теста и постепенного снижения с 30-й по 60-ю минуту ГТТ.



Различия между показателями в ходе ГТТ внутри каждой группы

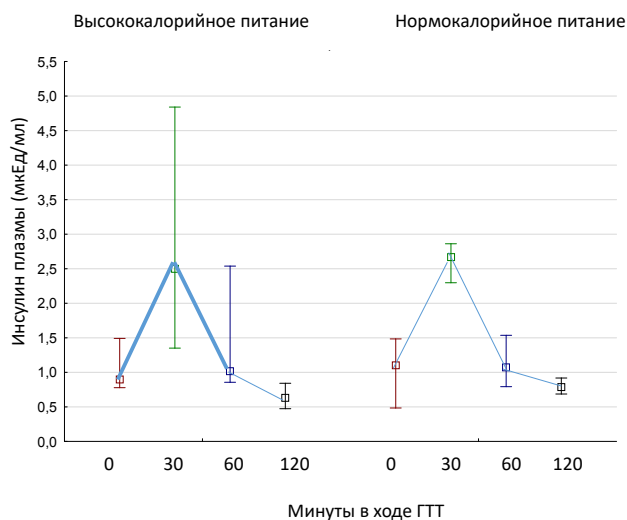
	Высококалорийное питание	Нормокалорийное питание
Критерий Фридмана	0,000	0,000
Критерий Вилкоксона		
0-10	0,005	0,007
10-30	0,203	0,028
30-60	0,005	0,161
60-120	0,037	0,018

	Высококалорийное питание	Нормокалорийное питание
Критерий Фридмана	0,000	0,000
Критерий Вилкоксона		
0-10	0,005	0,008
10-30	0,093	0,374
30-60	0,005	0,008
60-120	0,017	0,859

Рисунок 69. Различия в динамике гликемии в ходе ГТТ в группе нормо- и высококалорийного питания через 7 недель (ГТТ 1) и 14 недель (ГТТ 2) от начала эксперимента

3.4.2 Динамика секреции инсулина у животных

Исходная динамика секреции инсулина в группах нормо- и высококалорийного питания представлена на рисунке 70.



Различия между показателями в ходе ГТТ внутри каждой группы

	Высококалорийное питание	Нормокалорийное питание
Критерий Фридмана	0,001	0,004
Критерий Вилкоксона		
0-30	0,009	0,025
30-60	0,005	0,012
60-120	0,021	0,139

□ Медиана
I 25-75%

Рисунок 70. Различия в динамике секреции инсулина в группе нормо- и высококалорийного питания в исходном ГТТ

Примечание: жирными линиями выделены временные интервалы, в ходе которых наблюдалось статистически значимое изменение показателя

Сравнение динамики секреции инсулина на 7-й и 14-й неделях исследования показало, что животные обеих групп достигали равнозначного прироста секреции инсулина к окончанию эксперимента, однако темпы нарастания концентрации инсулина в ответ на углеводную нагрузку были различными (табл. 23).

Таблица 23. Секреция инсулина в ходе ГТТ (площадь под кривой, мкЕд/мл x час)

Группа	n	ГТТисх	n	ГТТ1	n	ГТТ2
Контроль	7	2,5 [2,4; 3,1]	9	3,1 [2,4; 4,6]	9	12,1 [9,1; 13,7]
Высококалорийное питание	9	2,8 [1,8; 5,1]	10	8,4 [5,8; 10,6]	9	9,9 [9,5; 11,0]

Как видно из рисунка 71 у животных в контрольной группе изменения концентрации инсулина в ходе ГТТ в интервале от начала исследования до 7-й недели не происходило. Значимый прирост секреции инсулина в этой группе животных наблюдался к 14-й неделе исследования. Напротив, в группе животных, получавших высококалорийное питание значимое увеличение секреции инсулина в ходе ГТТ происходило на первом временном отрезке эксперимента (в период до 7-й недели исследования), тогда как впоследствии концентрация инсулина значимо не изменялась (рис. 71).

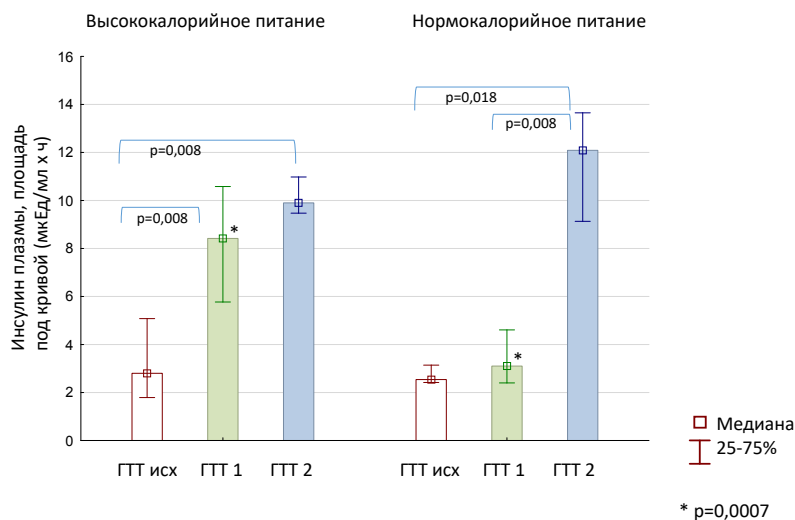


Рисунок 71. Различия в динамике секреции инсулина в ходе ГТТ в группе нормо- и высококалорийного питания через 7 недель (ГТТ 1) и 14 недель (ГТТ 2) от начала эксперимента

В группе животных, получающих нормокалорийное питание, несмотря на небольшой, но значимый прирост массы тела от начала эксперимента к 7-й неделе наблюдения, секреция инсулина не увеличивалась (рис. 72). По сравнению с результатами ГТТ на 7-й неделе эксперимента к 14-й неделе отмечалось повышение как секреции инсулина натощак, так и в постпрандиальный период.

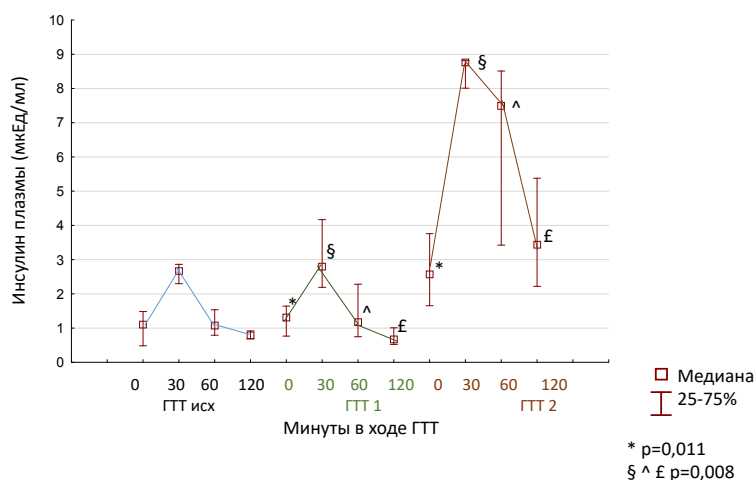


Рисунок 72. Динамика секреции инсулина в ходе ГТТ в группе контроля

В группе животных, получающих высококалорийное питание, секреция инсулина натощак и в постпрандиальный период значительно прирастала к 7-й неделе эксперимента (рис. 73).

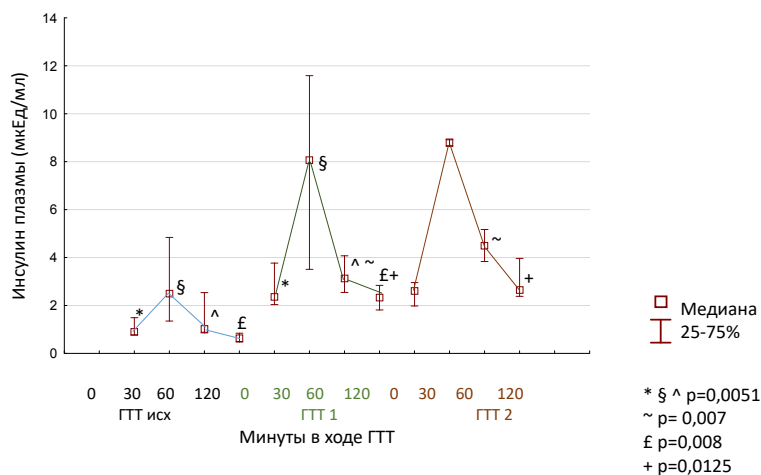


Рисунок 73. Динамика секреции инсулина в ходе ГТТ в группе высококалорийного питания

Различия в кривых концентрации инсулина между группами высоко- и нормокалорийного питания на 7-й и 14-й неделях эксперимента (в ГТТ 2 и 3) представлены на рисунке 74. Профиль секреции инсулина в двух группах животных начал различаться на 7-й неделе эксперимента, к 14-й неделе паттерн секреции инсулина в обеих группах сравнялся.

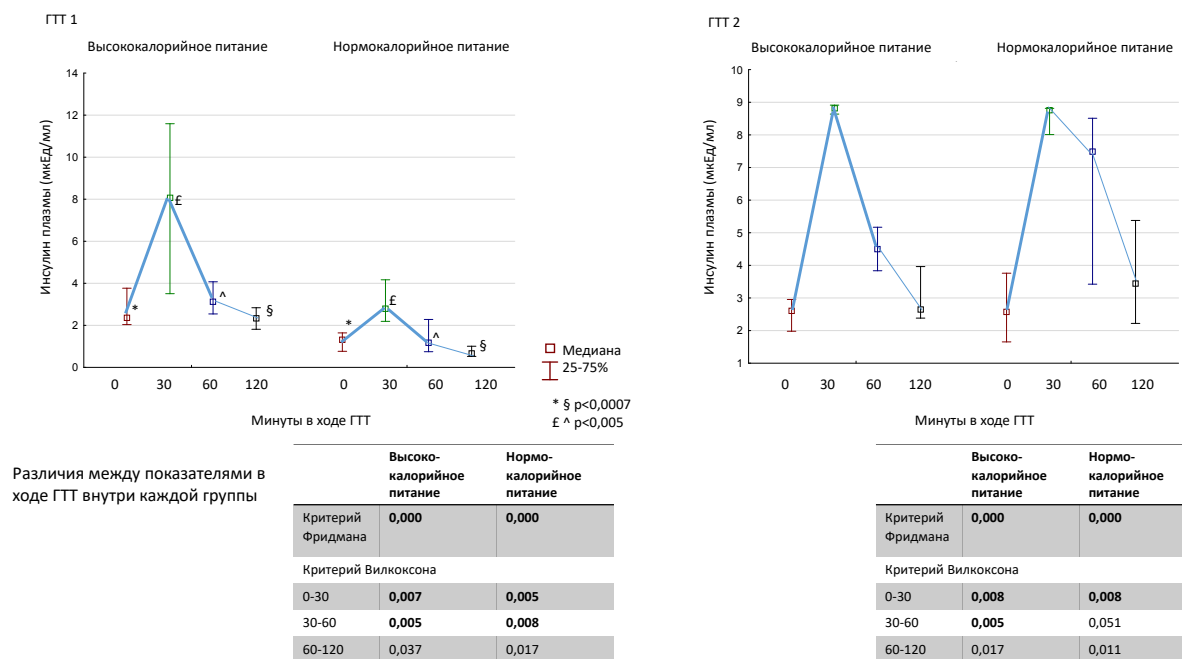


Рисунок 74. Различия в динамике секреции инсулина в ходе ГТТ в группе нормо- и высококалорийного питания через 7 недель (ГТТ 1) и 14 недель (ГТТ 2) от начала эксперимента

3.4.3 Динамика инсулинорезистентности, показателей функции бета-клетки у животных

В ходе эксперимента у животных обеих групп наблюдался рост выраженности ИР, определенной по индексу НОМА-ИР (табл. 24).

Таблица 24. Динамика индекса НОМА-ИР на протяжении эксперимента

Группа	n	Исходно	n	7 недель	n	14 недель
Контроль	10	0,27 [0,2; 0,4]	10	0,78 [0,62; 1,16]	9	0,78 [0,57; 0,87]
Высококалорийное питание	10	0,26 [0,14; 0,41]	10	0,38 [0,2; 0,42]	9	0,83 [0,4; 1,11]

Две группы животных различались по достигнутому уровню ИР к 7-й неделе 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. 75). В группе животных, получавших высококалорийное питание, увеличение ИР возникло уже на первом этапе эксперимента (к 7-й неделе) и далее ее величина осталась неизменной.

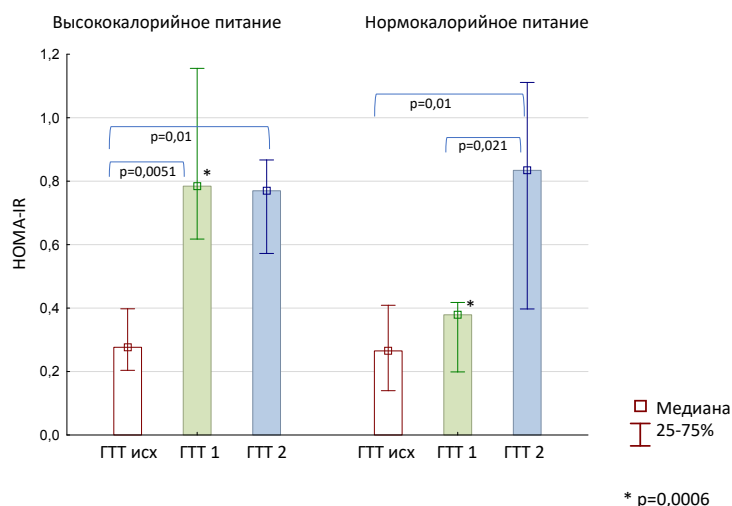


Рисунок 75. Различия в динамике ИР в группе нормо- и высококалорийного питания через 7 недель (ГТТ 1) и 14 недель (ГТТ 2) от начала эксперимента

В каждой из контрольных точек исследования была оценена секреторная способность бета-клеток поджелудочной железы как в базальном периоде (по индексу НОМА-%В), так и постпрандиально (по индексу инсулиногенности).

В обеих группах индекс НОМА-%В нарастал к 14-й неделе эксперимента (табл. 25).

Таблица 25. Динамика индекса НОМА-В на протяжении эксперимента

Группа	n	Исходно	n	7 недель	n	14 недель
Контроль	10	8,6 [3,2; 11,0]	10	8,8 [4,4; 12,5]	9	17,4 [13,5; 25,1]

Высококалорийное питание	10	7,3 [5,8; 11,9]	10	12,5 [10,7; 18,5]	9	15,3 [13,4; 20,7]
--------------------------	----	--------------------	----	----------------------	---	----------------------

Подобно динамике ИР, в группе животных, получающих высококалорийное питание, значимый прирост индекса НОМА-%В наблюдался в более ранний период (к 7-й неделе эксперимента), тогда как в контрольной группе этот показатель увеличивался в интервале от 7-й к 14-й неделе наблюдения (рис. 76).

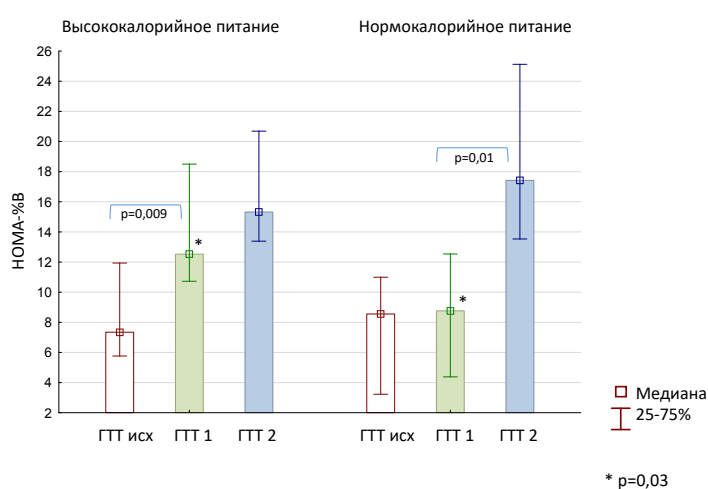


Рисунок 76. Различия в динамике индекса НОМА-%В в группе нормо- и высококалорийного питания через 7 недель (ГТТ 1) и 14 недель (ГТТ 2) от начала эксперимента

В исследовании оценивалась секреторная функция бета-клеток поджелудочной железы с помощью индекса инсулиногенности (ИИ), отражающего первую фазу секреции инсулина в ходе углеводной нагрузки, а также по соотношению площади под кривой секреции инсулина к концентрации глюкозы, что соответствует суммарному приросту инсулина за 120 минут ГТТ.

В двух группах животных ИИ был сопоставим, что отражало отсутствие различий в первой фазе секреции инсулина на протяжении всего эксперимента (табл. 26).

Таблица 26. Динамика индекса инсулиногенности на протяжении эксперимента

Группа	n	Исходно	n	7 недель	n	14 недель
Контроль	10	0,33 [-0,11; 0,52]	9	0,28 [0,18; 0,35]	9	0,63 [0,53; 0,82]
Высококалорийное питание	10	0,26 [0,09; 0,41]	10	0,55 [0,13; 0,96]	9	0,52 [0,41; 0,66]

Только в контрольной группе животных отмечалось увеличение ИИ на 14-й неделе наблюдения по сравнению с пиковой секрецией инсулина в ходе ГТТ на 7-й неделе эксперимента (рис. 77).

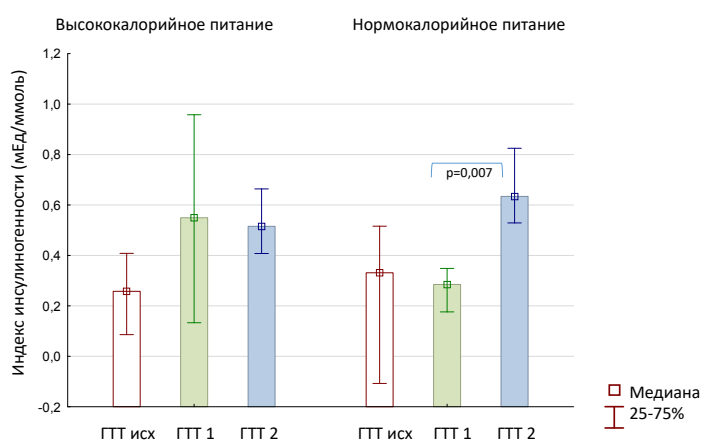


Рисунок 77. Различия в динамике индекса инсулиногенности в группе нормо- и высококалорийного питания через 7 недель (ГТТ 1) и 14 недель (ГТТ 2) от начала эксперимента

Суммарная секреция инсулина в группе животных, получавших высококалорийное питание, значимо нарастала к 7-й неделе наблюдения, затем стабилизировалась; в группе животных на нормокалорийном питании, наоборот, через 7 недель суммарная секреция инсулина в ходе ГТТ оставалась неизменной по сравнению с исходными значениями, тогда как к 14-й неделе этот показатель значимо увеличивался (табл. 27).

Таблица 27. Динамика соотношения инсулин/глюкоза (площадь под кривой, мЕд/ммоль*ч) на протяжении эксперимента

Группа	n	Исходно	n	7 недель	n	14 недель
Контроль	7	0,17 [0,14; 0,18]	9	0,17 [0,11; 0,22]	9	0,67 [0,42; 0,69]
Высококалорийное питание	9	0,16 [0,1; 0,21]	10	0,32 [0,21; 0,38]	9	0,29 [0,26; 0,43]

Межгрупповые различия в суммарной секреции инсулина наблюдались через 7 недель эксперимента, когда в группе высококалорийного питания этот показатель значимо превышал значение в группе нормокалорийного питания (рис. 78). Различия через 14 недель эксперимента не достигли статистической значимости.

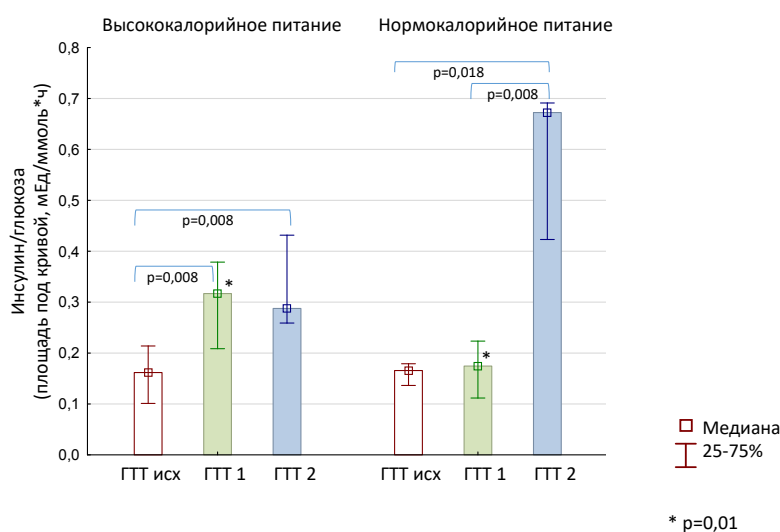


Рисунок 78. Различия в динамике соотношения инсулин/глюкоза (площадь под кривой) в группе нормо- и высококалорийного питания через 7 недель (ГТТ 1) и 14 недель (ГТТ 2) от начала эксперимента

3.4.4 Динамика секреции глюкагона у животных

В ходе исходного ГТТ у животных обеих групп наблюдалось физиологичное подавление секреции глюкагона в ответ на углеводную нагрузку (рис. 79).

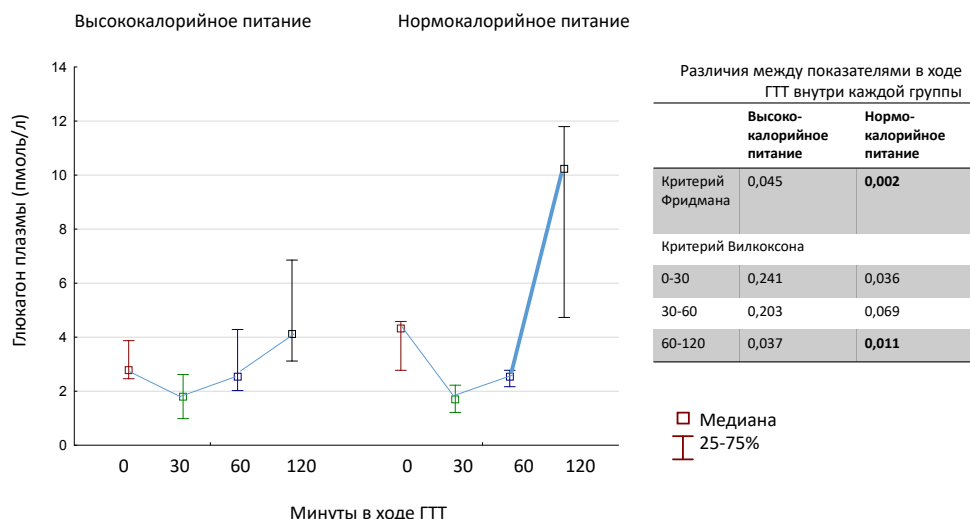


Рисунок 79. Различия в динамике секреции глюкагона в группе нормо- и высококалорийного питания в исходном ГТТ

Примечание: жирными линиями выделены временные интервалы, в ходе которых наблюдалось статистически значимое изменение показателя

В ходе эксперимента наблюдалась тенденция к снижению выработки глюкагона, наиболее отчетливая в группе нормокалорийного питания (таблица 28, рис. 80).

Таблица 28. Динамика секреции глюкагона (пмоль/л*ч) на протяжении эксперимента

Группа	n	Исходно	n	7 недель	n	14 недель
Контроль	7	8,9 [6,0; 10,8]	9	5,0 [3,3; 6,0]	9	5,3 [4,5; 6,1]
Высококалорийное питание	10	6,5 [5,4; 9,7]	10	4,9 [4,0; 7,9]	10	4,9 [3,5; 7,0]

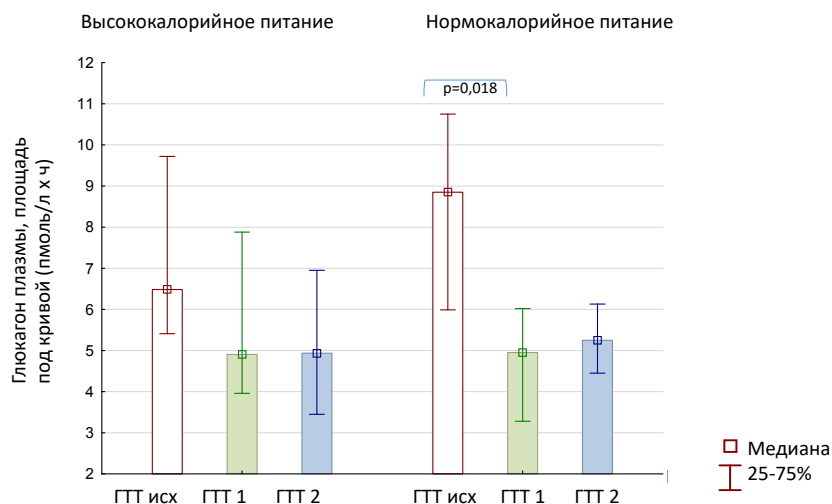


Рисунок 80. Различия в динамике секреции глюкагона в группе нормо- и высококалорийного питания через 7 недель (ГТТ 1) и 14 недель (ГТТ 2) от начала эксперимента

В контрольной группе паттерн секреции глюкагона на 7-й неделе был схож с исходным, к 14-й неделе наблюдалось уплощение кривой, отражающее снижение подавления секреции глюкагона в ответ на углеводную нагрузку (рис. 81).

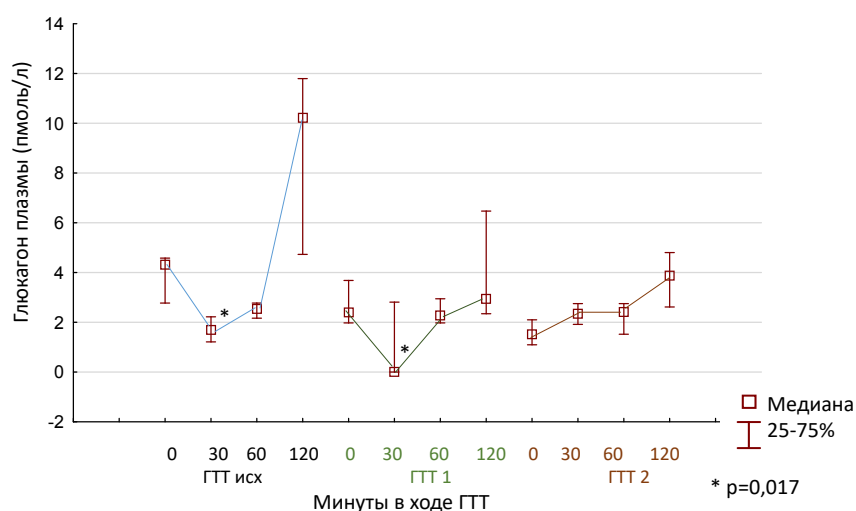


Рисунок 81. Динамика секреции глюкагона в ходе ГТТ в группе контроля

В группе животных, получавших высококалорийное питание, значимые различия в профилях секреции глюкагона в ходе трех ГТТ отсутствовали, к 14-й неделе также определялась тенденция к снижению подавления глюкагона в ходе ГТТ (рис. 82).

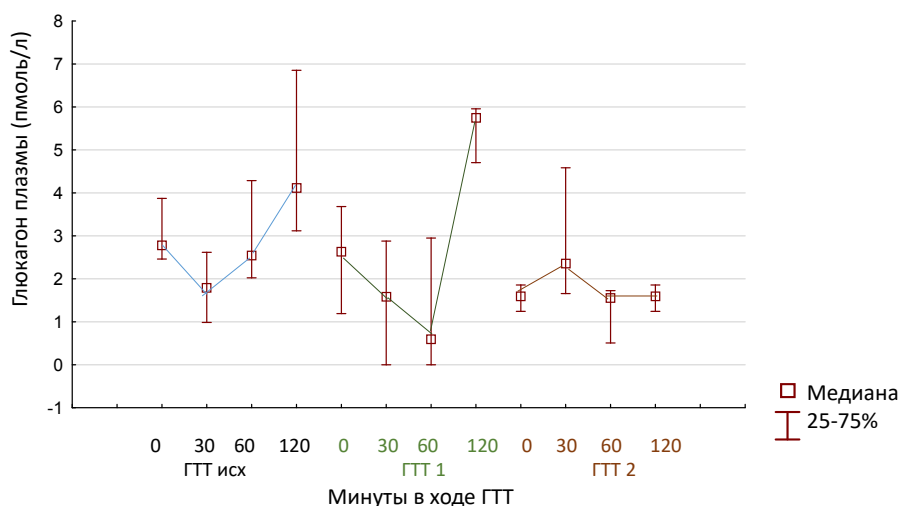
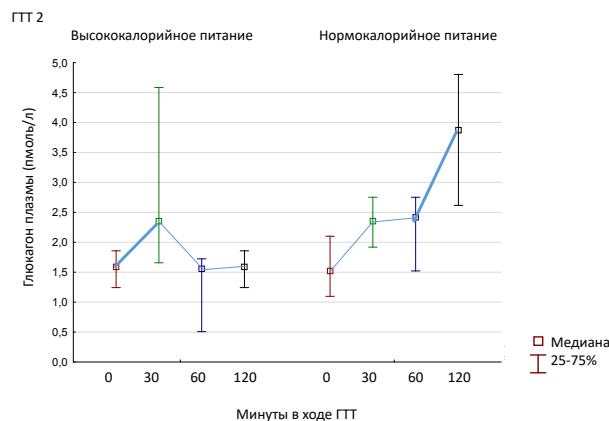
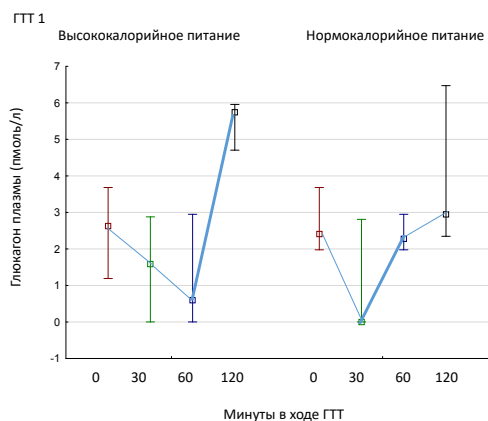


Рисунок 82. Динамика секреции глюкагона в ходе ГТТ в группе высококалорийного питания

В целом существенных различий в секреции глюкагона между двумя группами в ходе эксперимента не было выявлено (рис. 83). Тем не менее, если на 7-й неделе исследования к 60/120-й минутам ГТТ отмечалось повышение концентрации глюкагона после предварительного снижения в ответ на прием глюкозы, то на 14-й неделе исследования в группе высококалорийного питания было отмечено отсутствие раннего (на 30-й минуте) подавления секреции глюкагона.



Различия между показателями в ходе ГТТ внутри каждой группы

	Высоко-калорийное питание	Нормо-калорийное питание
Критерий Фридмана	0,000	0,012
Критерий Вилкоксона		
0-30	0,407	0,086
30-60	0,398	0,012
60-120	0,005	0,069

	Высоко-калорийное питание	Нормо-калорийное питание
Критерий Фридмана	0,034	0,021
Критерий Вилкоксона		
0-30	0,009	0,021
30-60	0,059	0,594
60-120	0,386	0,015

Рисунок 83. Различия в динамике секреции глюкагона в ходе ГТТ в группе нормо- и высококалорийного питания через 7 недель (ГТТ 1) и 14 недель (ГТТ 2) от начала эксперимента

Анализ зависимости уровня глюкагона от концентрации глюкозы в ходе первых 30 минут ГТТ (прирост глюкагона) подтвердил наличие сохранного подавления выработки глюкагона в обеих группах как исходно, так и через 7 недель наблюдения (табл. 29). К 14-й неделе эксперимента у животных обеих групп в ответ на углеводную нагрузку наблюдалась парадоксальная гиперглюкагонемия (прирост глюкагона приобретал положительные значения).

Таблица 29. Динамика прироста глюкагона (пмоль/ммоль) на протяжении эксперимента

Группа	n	Исходно	n	7 недель	n	14 недель
Контроль	8	-0,66 [-0,89; -0,36]	9	-0,2 [-0,72; -0,12]	9	0,11 [0,05; 0,14]

Высококалорийное питание	10	-0,17 [-0,85; 0,02]	10	-0,08 [-0,33; 0,0]	10	0,1 [0,03; 0,19]
--------------------------	----	------------------------	----	-----------------------	----	---------------------

Значимых различий по данному показателю между двумя группами животных обнаружено не было (рис. 84).

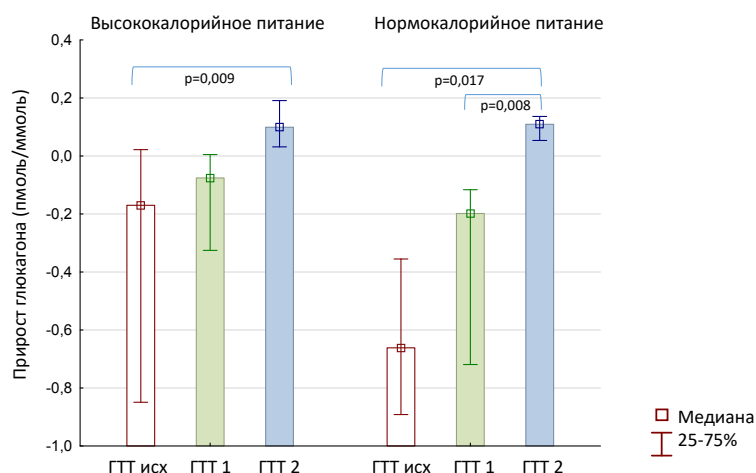


Рисунок 84. Различия в динамике прироста глюкагона в группе нормо- и высококалорийного питания через 7 недель (ГТТ 1) и 14 недель (ГТТ 2) от начала эксперимента

При этом суммарное количество глюкагона, секретируемого на 1 ммоль глюкозы, снижалось в ходе эксперимента в обеих группах (табл. 30, рис. 85).

Таблица 30. Динамика соотношения глюкагон/глюкоза (площадь под кривой, пмоль/ммоль*ч) на протяжении эксперимента

Группа	n	Исходно	n	7 недель	n	14 недель
Контроль	7	0,45 [0,42; 0,59]	9	0,25 [0,18; 0,31]	9	0,24 [0,20; 0,27]
Высококалорийное питание	10	0,35 [0,32; 0,39]	10	0,18 [0,16; 0,31]	10	0,14 [0,10; 0,30]

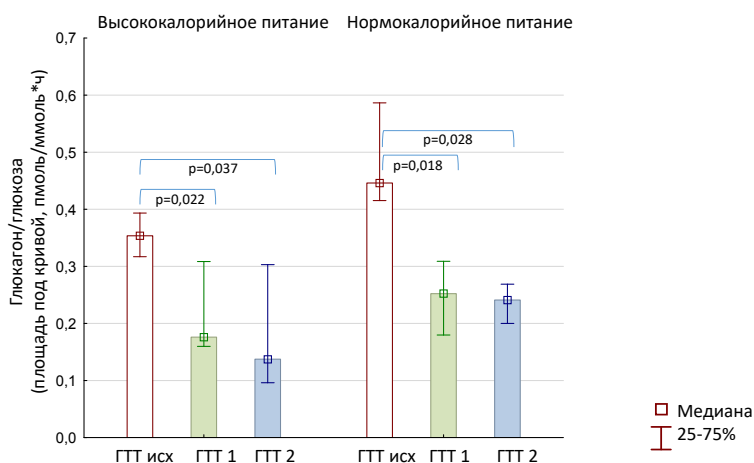


Рисунок 85. Различия в динамике соотношения глюкагон/глюкоза (площадь под кривой) в группе нормо- и высококалорийного питания через 7 недель (ГТТ 1) и 14 недель (ГТТ 2) от начала эксперимента

3.4.5 Динамика базальной секреции инкретиновых гормонов у животных

Животные обеих групп имели разнонаправленные изменения базальной секреции основных инкретиновых гормонов на протяжении всего эксперимента (таблица 31).

Таблица 31. Динамика базальной секреции ГПП-1 (пмоль/л*ч) и ГИП (пмоль/л*ч) на протяжении эксперимента

Группа	n	Исходно	n	7 недель	n	14 недель
ГПП-1						
Контроль	10	23,5 [20,0; 35,8]	10	26,4 [20,5; 28,2]	9	17,0 [15,0; 18,6]
Высококалорийное питание	10	25,7 [21,7; 28,6]	10	26,4 [19,5; 29,9]	10	20,9 [15,0; 24,7]

ГИП						
Контроль	10	12,5 [11,9; 14,8]	10	13,9 [11,7; 15,7]	9	25,7 [23,1; 45,4]
Высококалорийное питание	10	16,3 [14,2; 19,3]	10	16,8 [13,1; 18,5]	10	21,8 [19,5; 24,4]

В обеих группах секреция ГПП-1 статистически значимо снижалась к 14-й неделе наблюдения (рис. 86) и, наоборот, базальная концентрация ГИП повышалась к окончанию эксперимента (рис. 87).

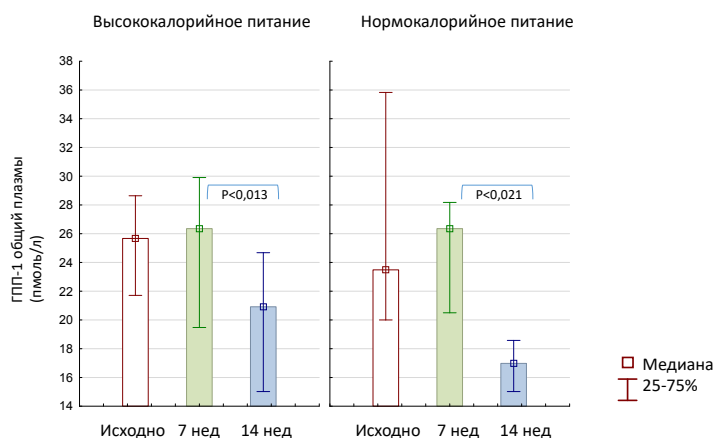
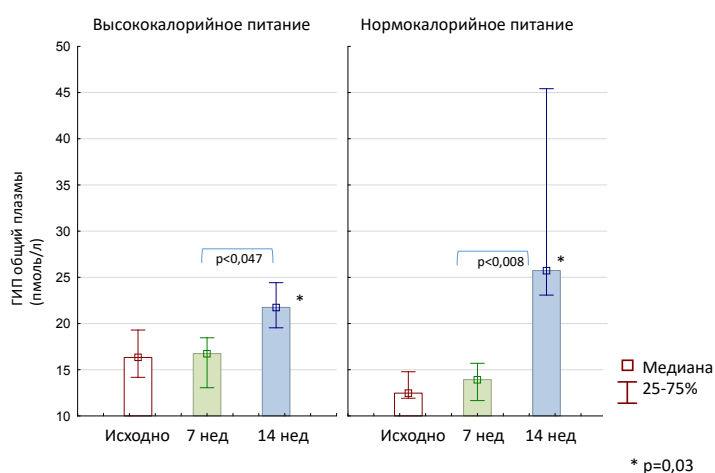


Рисунок 86. Различия в динамике секреции ГПП-1 в группе нормо- и высококалорийного питания через 7 недель (ГТТ 1) и 14 недель (ГТТ 2) от начала эксперимента



* p=0,03

Рисунок 87. Различия в динамике секреции ГИП в группе нормо- и высококалорийного питания через 7 недель (ГТТ 1) и 14 недель (ГТТ 2) от начала эксперимента

3.4.6 Морфологическое и иммуногистохимическое исследование

После проведения основного этапа исследования животные обеих групп подверглись эвтаназии. Для последующего сравнения были отобраны образцы жировой ткани (подкожный и висцеральный жир), печени и поджелудочной железы.

По результатам сравнения двух групп были обнаружены значимые различия в морфологии и распределении жировой ткани у животных на высоко- и нормокалорийном питании.

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. 88 А, Б).

Висцеральная жировая ткань животных, получавших высококалорийное питание, характеризовалась более выраженной макрофагальной инфильтрацией по сравнению с животными на нормокалорийном питании (рис. 88 В).

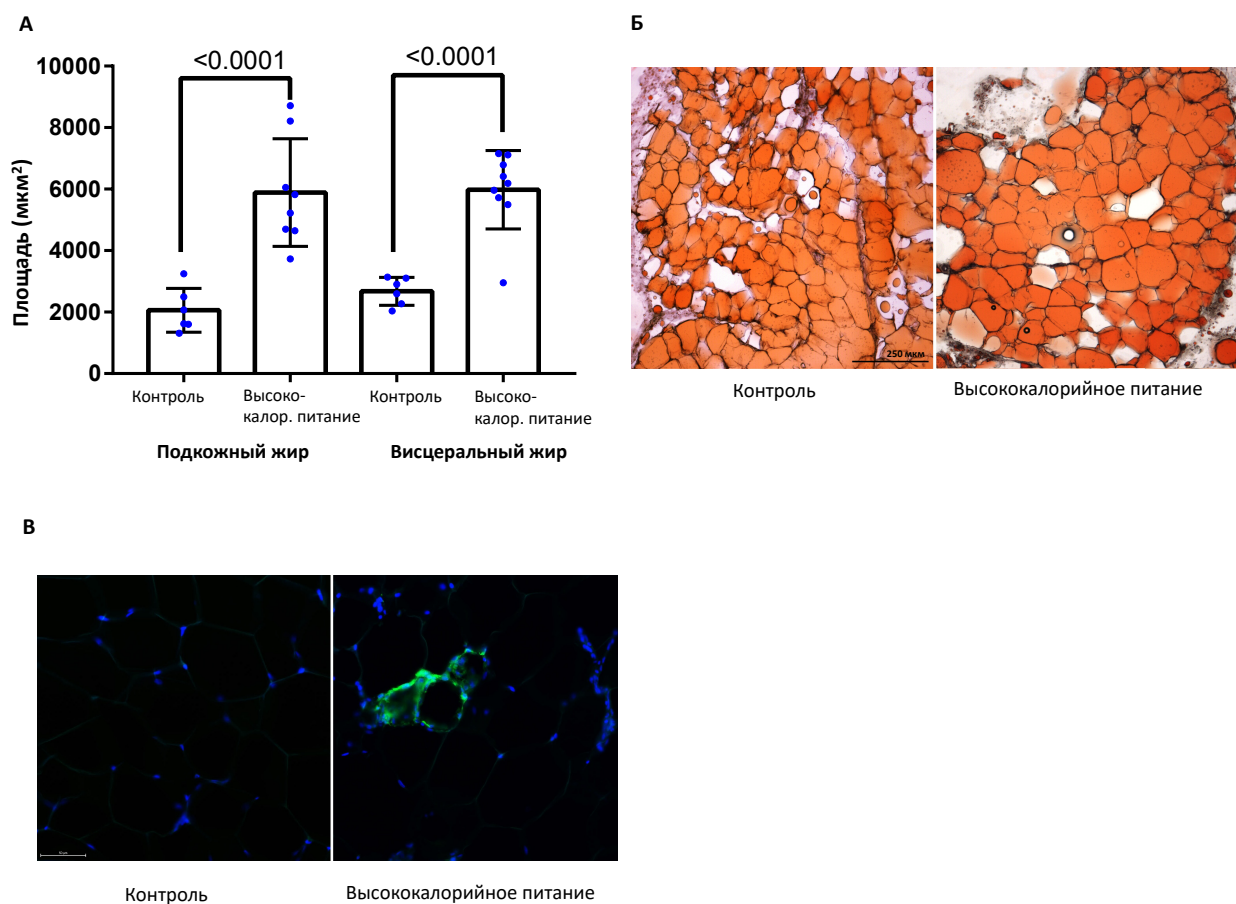


Рисунок 88. Морфология адипоцитов подкожного и висцерального депо жировой ткани в группах нормо- и высококалорийного питания. А- гистограмма площади адипоцитов; Б – гистологические препараты висцеральной жировой ткани в группах нормо- и высококалорийного питания; В - иммунофлуоресцентное окрашивание образцов висцеральной жировой ткани антителами к IVA (маркеру макрофагов), зеленое окрашивание. 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. 89 А-Г).

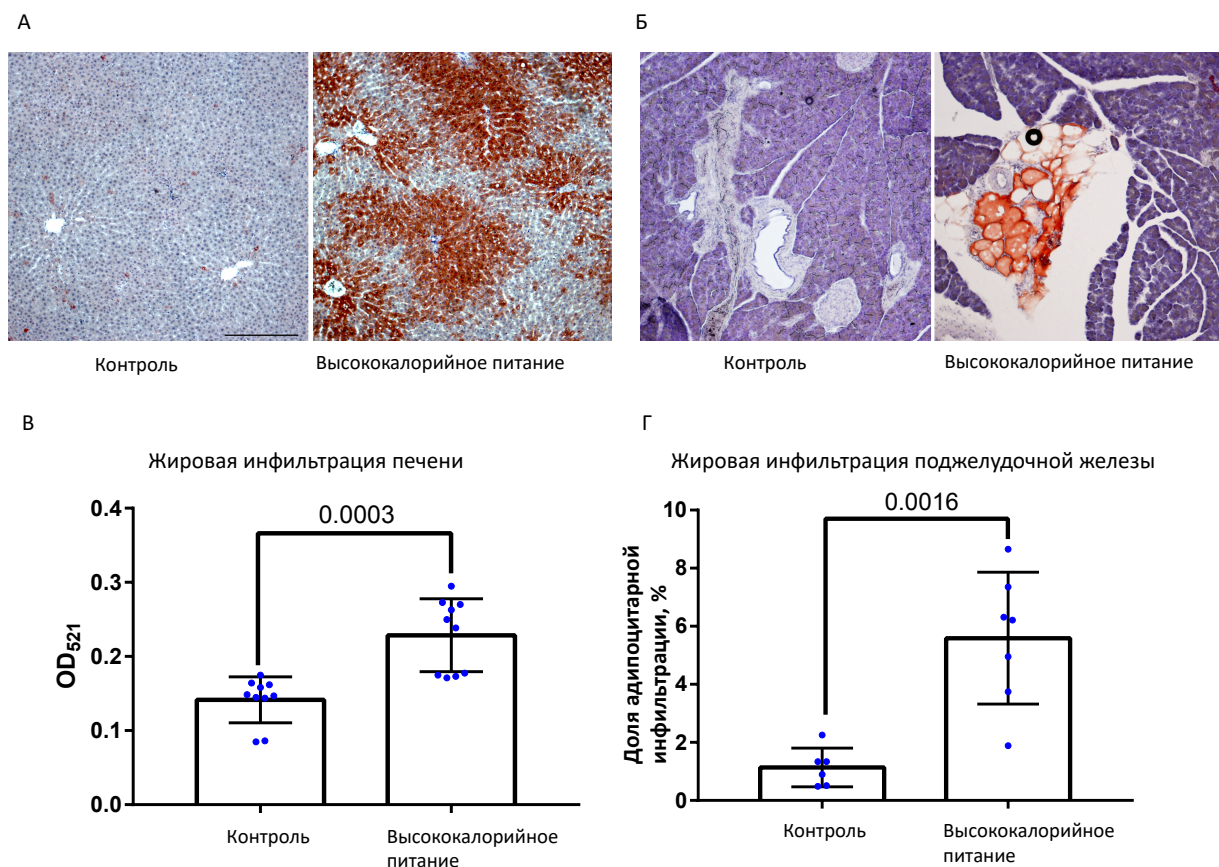


Рисунок 89. Эктопическое отложение жировой ткани. А, В- жировая инфильтрация печени в группах нормо- и высококалорийного питания (А- окраска масляным красным, В- фотометрическая оценка плотности окрашивания); Б, Г – жировая инфильтрация поджелудочной железы в группах нормо- и высококалорийного питания (Б- окраска масляным красным, Г- доля адипоцитов (%) к площади среза). 10-кратное увеличение

3.5 Резюме основного результата 4 этапа исследования

В ходе экспериментального исследования были получены данные о нарастании патогенетических механизмов в процессе увеличения массы тела. Для этого животные групп высококалорийного и нормокалорийного питания сравнивались по ряду параметров на разных временных отрезках: до начала воздействия, через 7 и 14 недель от введения диеты.

По результатам наших наблюдений у животных группы высококалорийного питания очень быстро (в первые 7 недель) произошел прирост массы тела, ИР и гипергликемии.

У животных группы нормокалорийного питания к 14 неделям наблюдения выраженность ИР достигла сопоставимых значений с группой высококалорийного питания, однако массы тела и выраженность гипергликемии в этой группе оставалась значимо более низкой. Из этого наблюдения следует вывод о том, что ИР является значимым, но не единственным фактором, вызывающим развитие нарушений углеводного обмена. Гиперинсулинемия в обеих группах нарастала синхронно с развитием ИР.

Вторичными по отношению к ИР механизмами развития СД 2 являлись исчезновение подавления секреции глюкагона в ответ на углеводную нагрузку и снижение секреции ГПП-1. Данные параметры изменялись с 7-й по 14-ю недели эксперимента.

Данные о морфологии адипоцитов при различной выраженности нарушений углеводного обмена совпадают с результатами предыдущего этапа работы: у животных группы высококалорийного питания, у которых развилась гипергликемия, было отмечено повышение размеров адипоцитов как подкожного, так и висцерального жирового депо. Помимо этого, степень эктопического отложения жира в ткани печени и поджелудочной железы в группе животных, получавших высококалорийное питание, значимо превышала аналогичный показатель в контрольной группе.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ

На протяжении уже нескольких десятилетий обсуждается феномен «метаболически здорового ожирения», который по данным исследований представляет собой уникальный защитный фенотип, позволяющий пациентам на протяжении длительного времени не иметь осложнений ожирения. И хотя многие исследования указывают на более высокий риск сердечно-сосудистых, почечных, онкологических исходов у пациентов с таким фенотипом ожирения, чем у лиц без избыточной массы тела, прогноз их существенно лучше, чем у пациентов с ожирением и метаболическими осложнениями [100-104]. К тому же есть исследования, говорящие об отсутствии увеличения риска общей смертности [105], заболеваний атеросклеротического генеза [106, 107], ХБП [108] на фоне «метаболически здорового ожирения». Таким образом, состояние «метаболического здоровья» характеризуется относительно благоприятным течением ожирения и изучение данной когорты пациентов представляет интерес как потенциальный источник информации о факторах, защищающих от нарушений углеводного обмена и других метаболических расстройств.

В нашем исследовании мы сосредоточились на взаимосвязи ожирения и одного из компонентов метаболического синдрома - нарушений углеводного обмена. По данным исследований, проведенных в РФ, частота встречаемости гипергликемии у пациентов с «метаболически здоровым ожирением» в Московском регионе составила 6,8% [4], в г. Новосибирск – 12% у мужчин и 5% у женщин [17], что указывает на возможность сохранения нормального углеводного обмена у большинства пациентов с «метаболически здоровым ожирением».

Целью данной научной работы являлось выяснение механизмов, которые сопряжены с защитой от развития СД 2 у пациентов с выраженным ожирением. Определение данных механизмов позволит создать теоретические

предпосылки для разработки новых эффективных вариантов профилактики СД 2 у лиц с ожирением.

Работа состояла из четырех частей, последовательно углубляющихся в решение поставленной задачи. На трех этапах были выделены группы пациентов с ожирением и наличием или отсутствием СД 2, четвертый этап был экспериментальным, где моделировалось развитие ожирения и нарушений углеводного обмена у крыс. Этапы исследования были посвящены изучению антропометрических, клинико-лабораторных, гормональных, клеточных, генетических факторов, которые могли быть ассоциированы с развитием СД 2 у пациентов при выраженном избытке жировой ткани.

Исследование было спланировано таким образом, чтобы на первых этапах оценить вклад наиболее доступных для определения параметров, способных повлиять на риск развития нарушений углеводного обмена у лиц с ожирением, а затем провести более углубленный анализ механизмов защиты от развития СД 2.

К наиболее простым для клинической оценки показателям относились данные анамнеза, особенности образа жизни пациентов, в том числе пищевые привычки. Далее исследовались антропометрические и рутинные лабораторные показатели, способные дифференцировать пациентов с ожирением и различными метаболическими рисками. Задачей проспективной части работы было изучение метаболических, гормональных, клеточных и генетических факторов, способствующих защите от нарушений углеводного обмена или, наоборот, их стимулирующих. На этом этапе также определялась обратимость метаболических и гормональных изменений, вызванных ожирением на фоне снижения массы тела после бариатрических вмешательств. Наконец, для оценки хронологической последовательности развития гормональных изменений по мере увеличения массы тела была создана модель экзогенно-конституционального ожирения путем применения высококалорийного рациона питания у лабораторных животных.

4.1 Ретроспективное исследование

На первом этапе мы поставили перед собой задачу оценить вероятность сохранения нормогликемии среди лиц с максимально выраженным и длительным ожирением. Для этого нами была проанализирована база данных пациентов, пришедших на амбулаторный прием к бариатрическому хирургу [109].

Особенность нашей выборки заключалась в том, что она представляла пациентов, априори имеющих большие значения ИМТ и большую длительность ожирения по сравнению с теми пациентами, которые приходят на консультативный прием к эндокринологу: чаще всего пациенты обращаются к бариатрическому хирургу после многократных попыток снизить массу тела с помощью нехирургических методов. Для наших задач данное смещение выборки было необходимым для отслеживания вероятности сохранения нормального углеводного обмена у пациентов с длительным морбидным ожирением.

По результатам нашего исследования более 70% пациентов с ИМТ ≥ 50 кг/м² и более 80% пациентов с длительность ожирения ≥ 30 лет не сообщали о наличии у них нарушений углеводного обмена. Дизайн исследования не позволяет судить о распространенности ожирения без СД 2, но частота нормогликемии у пациентов со столь длительным морбидным ожирением оказалась очень высокой. Данное наблюдение позволило нам утверждать, что действительно существует группа пациентов, у которых, несмотря на длительный анамнез ожирения, имеются свойства, защищающие их от развития нарушений углеводного обмена.

Увеличение длительности ожирения по мнению ряда авторов является одним из ключевых факторов, определяющих риск развития СД 2, наряду с возрастом и степенью ожирения [110-112]. Так, пациенты с «метаболически здоровым ожирением» с течением времени в большей степени подвержены развитию СД 2 по сравнению с лицами без избыточной массы тела [113]. Тем

не менее, это утверждение не является общепризнанным и длительность ожирения не включается в калькуляторы риска развития СД 2, в том числе FINDRISC и ADA-DRS [114, 115]. В ряде работ отрицалась связь между длительностью ожирения и риском развития метаболических расстройств [116]. Некоторые исследования демонстрировали зависимость риска развития СД 2 от длительности ожирения, однако она не была линейной [117]; другие работы свидетельствовали о том, что может иметь значение не столько длительность, сколько другие параметры оценки избыточности жировой ткани, такие как вариабельность массы тела [118] или медианный ИМТ [119]. Мы полагаем, что полученные в нашем исследовании результаты о сопоставимости длительности ожирения в группах лиц с и без СД 2, говорят о том, что длительность ожирения не является первостепенным фактором, определяющим риск развития нарушений углеводного обмена у пациентов с ожирением.

Дальнейший анализ был направлен на оценку клинических параметров, которые могли бы различать пациентов с ожирением и большей или меньшей предрасположенностью к развитию СД 2. По данным литературных источников многие особенности семейного анамнеза и образа жизни могут влиять на риск развития гипергликемии у лиц с СД 2 [120, 121]. К особенностям образа жизни, защищающим от СД 2, относятся, например, достаточная физическая активность – не менее 30 минут в день, изменение характера питания с преобладанием овощей и фруктов, умеренное употребление алкоголя [122]. Однако для оценки большинства данных параметров требуется применение дневников питания и физической активности, специальных опросников, приложений, отслеживающих физическую активность и др. При этом даже при тщательной оценке опросников по характеру питания не всегда удастся выделить ключевые пищевые привычки, сопровождающие пациентов с низким или высоким риском СД 2 [123]. В своем исследовании мы сосредоточились на простых для оценки на амбулаторном приеме параметрах: частоте и времени приемов пищи, пристрастии пациентов к пище, богатой

простыми углеводами или жирами, а также наличие попыток к снижению массы тела. Простота оценки этих параметров заключалась в том, что пациенты указывали конкретный ответ либо в цифровом значении (кратность приемов пищи), либо временной параметр (преимущественный прием пищи в утреннее или вечернее время), либо факт наличия попыток снижения массы тела или злоупотребления продуктами богатых простыми углеводами или жирами. Все указанные параметры, а также статус курения, не различались у пациентов с СД 2 и лиц с отсутствием нарушений углеводного обмена.

Безусловно, при более детальной оценке характеристик образа жизни в нашем исследовании могли быть найдены отличия между пациентами с СД 2 и без нарушений углеводного обмена. В частности, мы не проводили оценку нарушений пищевого поведения как фактора риска СД 2. Нарушения пищевого поведения - группа психических расстройств, которые связаны с патологическим отношением к пище, своей массе тела и внешнему виду. К основным видам нарушений пищевого поведения относят анорексию, булимию, а также категорию приступообразного переедания (binge eating disorder) [124]. По данным мета-анализа исследований, посвященных ассоциации нарушений пищевого поведения и развития СД 2, булимии и приступообразное переедание связаны с риском СД 2 в отличие от анорексии [125]. Данные ассоциации представляются логичным следствием развития избыточной массы тела и ожирения при булимии и приступообразном переедании. В российской популяции нарушения пищевого поведения часты: согласно тесту отношения к приему пищи доля пациентов с высокой вероятностью нарушений пищевого поведения среди лиц с избыточной массой тела составляет 22,6%, среди лиц с ожирением I, II и III степени — 21,5, 21,8 и 22,7% соответственно [126]. Иными словами, каждый пятый пациент с ожирением вне зависимости от его выраженности может иметь нарушения пищевого поведения, что обеспечивает возможность применения психотерапевтического подхода для коррекции ассоциированных с ожирением метаболических нарушений. Более тщательная оценка пищевого

статуса и поведения может являться предметом дальнейшего изучения с целью возможной профилактики СД 2.

В нашем исследовании наличие семейного анамнеза ожирения не влияло на вероятность развития нарушений углеводного обмена. Пациенты с СД 2 и без равновероятно имели близких и дальних родственников с избыточными весом. Судя по всему, склонность к развитию метаболических расстройств может быть семейной чертой ожирения: у пациентов с ожирением, имеющих СД 2, вероятно, родственники также страдают нарушениями углеводного обмена, и наоборот.

В нашем исследовании лица без нарушений углеводного обмена были моложе и имели более ранний старт ожирения по сравнению с лицами с СД 2. Безусловно, ранний возраст дебюта ожирения у лиц без нарушений углеводного обмена по сравнению с пациентами с СД 2 представляется парадоксальным. Мы не склонны думать, что раннее начало ожирения может иметь протективный эффект в отношении развития СД 2 в дальнейшем. По результатам многих исследований ранний дебют ожирения был ассоциирован с более высоким риском развития СД 2 [127-129]. Мы допускаем, что возраст начала ожирения в нашей работе мог быть обозначен не точно, так как информация о нем собиралась со слов пациентов, а не из медицинской документации. Тем не менее, объяснение более раннего старта ожирения у лиц без нарушений углеводного обмена может крыться в темпе набора массы тела. В нашей работе большинство пациентов с нормальным углеводным обменом, начав набирать массу тела в более молодом возрасте, сообщали о том, что максимального веса они достигли в течение короткого времени до консультации у бариатрического хирурга. В отличие от них, пациенты с СД 2 характеризовались более поздним стартом ожирения и более хронологически ранним пиком массы тела. Возможно, сам факт постановки диагноза СД 2 стимулировал пациентов снижать массу тела, в связи с чем к моменту консультации бариатрического хирурга эта группа уже миновала период максимального веса.

Иными словами, косвенно мы можем предположить, что пациенты с СД 2 набирали максимальный вес в течение более короткого периода времени и именно быстрый темп увеличения веса приводил к метаболическим нарушениям. Эта гипотеза требует подтверждения, однако в литературе имеются данные о важности пиковой массы тела как фактора, ассоциированного с функциональными возможностями бета-клетки [130]. Помимо этого предположения, возможны альтернативные объяснения более раннего дебюта ожирения у лиц без нарушений углеводного обмена. Так, старт увеличения веса с детского и подросткового возраста может говорить о наличии у данных пациентов особого типа ожирения, в частности в рамках наследственных синдромов. Более редкие типы ожирения (синдромальные его формы) также характеризуются нарушением чувствительности к инсулину и развитием гипергликемии. Одной из самых частых генетических причин развития ожирения у детей является синдром Прадера-Вилли [131]. Тестирования на наличие данного и других редких типов ожирения в данном исследовании не проводилось. Однако, необходимо отметить, что синдромальное ожирение встречается в популяции редко [132].

Таким образом, первая часть исследования подтвердила возможность длительного сохранения нормального углеводного обмена у пациентов с морбидным ожирением. Простых в использовании анамнестических характеристик и особенностей образа жизни, позволяющих быстро определить риск развития СД 2 у лиц с ожирением, обнаружить не удалось.

Безусловно, первая часть исследования имеет ограничения. Все показатели, проанализированные в данном исследовании (за исключением текущих роста и веса пациентов), были записаны по памяти пациентов, что могло приводить к искажению данных, таких как длительность, возраст начала избыточного веса или ожирения и др. Наличие диагноза сахарного диабета указывалось со слов пациентов, что не позволяет с уверенностью говорить об отсутствии нарушений углеводного обмена у включенных в исследование лиц. Так, в исследовании, сравнивающем показатели гликемии натощак у лиц с

ожирением и без, не обнаруживалось значимых различий в этом показателе; однако, когда включенным пациентам с ожирением был проведен ПГТТ, распространенность НТГ и СД 2 в этой группе составила более 30% [133].

В нашем исследовании также не представлялось возможным отследить время дебюта сопутствующих заболеваний, в связи с чем нельзя оценить наличие причинно-следственной связи между СД 2 и сопутствующей патологией.

В связи с частым несвоевременным выявлением нарушений углеводного обмена, что было подтверждено в исследовании NATION на российской популяции [134], вторая часть исследования была посвящена более детальной оценке и сравнению пациентов с ожирением без СД 2 с другими группами лиц, имеющих различные сочетания метаболических осложнений.

4.2 Одновременное исследование

Выявление подгруппы лиц, сохраняющей нормальный статус углеводного обмена, несмотря на анамнез длительного морбидного ожирения, позволили нам углубиться в поиске защитных факторов от развития СД 2. Мы предположили, что такие факторы могут крыться в антропометрических, клиничко-лабораторных, гормональных особенностях пациентов.

С целью определить данные факторы мы оценивали состояние секреции инсулина, показатель ИР, а также выработку инкретиновых гормонов у лиц с ожирением без СД 2 или предиабета в сравнении с пациентами с другими сочетаниями ИМТ и метаболических расстройств [135, 136].

Было выделено несколько групп пациентов. Контрольная группа состояла из молодых лиц без ожирения и без нарушений углеводного обмена и представляла собой ориентировочную «норму». Последующие группы отличались нарастанием метаболических расстройств. Группа «- ожирение -

СД» так же, как и контрольная, не имела нарушений углеводного обмена, однако характеризовалась избыточной массой тела и была значимо старше. Группа «+ ожирение - СД» – ключевая в нашем исследовании, так как именно эти пациенты представляли фенотип ожирения без нарушений углеводного обмена. Пациенты с СД 2 и предиабетом разделены на две группы: пациенты с впервые выявленными нарушениями углеводного обмена и пациенты с анамнезом СД 2, получающие ССП. Выделение группы «+ ожирение + СД + ССП» обусловлено тем, что данные пациенты отличались от группы «+ ожирение + СД» большей длительностью нарушений углеводного обмена и возможным вкладом приема ССП.

По нашим результатам, пациенты с ожирением без нарушений углеводного метаболизма по целому ряду параметров отличались от лиц с другими метаболическими параметрами. Пациенты с $ИМТ \geq 30 \text{ кг/м}^2$ закономерно имели более выраженное висцеральное ожирение по сравнению с пациентами с $ИМТ < 30 \text{ кг/м}^2$. Несмотря на то, что по результатам мета-анализа исследований все антропометрические показатели, такие как ИМТ, ОТ и ОТ/ОБ имеют равную предсказательную способность в отношении развития СД 2 типа у лиц с исходной нормогликемией [137], в нашем исследовании показатель ОТ в большей степени отражал метаболические риски в группах пациентов, нежели ОТ/ОБ. Последний показатель позволял дифференцировать лишь крайние группы метаболического риска: соотношение ОТ/ОБ значимо отличалось у контрольной группы и пациентов с ожирением и СД 2 на ССП. Несоответствие выраженности висцерального ожирения по параметрам ОТ и ОТ/ОБ может говорить о том, что метаболический риск кроется именно в факте наличия висцерального ожирения (что лучше отражает ОТ), а не соотношения количества висцеральной и подкожной жировой клетчатки (что заложено в ОТ/ОБ).

Существуют свидетельства в пользу того, что именно различия в соотношении депо жировой ткани могут иметь ключевое значение для формирования двух разных фенотипов ожирения: защитного от развития СД

2, или, наоборот, способствующего более быстрому развитию метаболических расстройств [138]. Защитные свойства приписываются подкожной жировой ткани, а висцеральная ткань воспринимается как источник нарушения метаболизма. О важности сохранения подкожной жировой клетчатки для нормального углеводного обмена свидетельствуют результаты обследования пациентов с парциальным или генерализованным отсутствием подкожной жировой клетчатки (синдромом липодистрофий). Казалось бы, при данных синдромах вовсе не должно наблюдаться метаболических нарушений. Однако, липодистрофии часто сопровождаются тяжелой ИР, развитием СД и дислипидемии - так называемый “липоатрофический сахарный диабет”. Связано это с тем, что в организме пациентов с липодистрофиями отсутствует именно подкожная жировая ткань, а висцеральная и эктопическая жировая ткань чрезмерно выражены [71].

Значимость накопления именно висцерального жира для формирования синдрома ИР и развития гипергликемии продемонстрирована во многих исследованиях [139, 140]. В висцеральной жировой ткани инсулин хуже подавляет липолиз, чем в подкожной, в результате чего в крови накапливаются жирные кислоты. В условиях большого содержания жирных кислот в крови глюкоза тканями не поглощается и развивается гипергликемия [141].

По нашим результатам пациенты с ожирением без нарушений углеводного метаболизма имели более низкий показатель ИР по сравнению с пациентами с ожирением и СД 2. Вероятно, именно этот фактор обеспечивает более благоприятный прогноз в данной группе.

Помимо отличий в ИР группа «+ ожирение - СД» имела более высокую базальную (определенную по индексу НОМА-%В) и стимулированную (определенную по ИИ) секрецию инсулина в сравнении с пациентами с ожирением и СД 2. Мы предполагаем, что для преодоления ИР всем пациентам с ожирением необходима большая секреция инсулина, чем лицам без ожирения. Увеличение секреции инсулина позволяет поддерживать

нормогликемию. Особенность лиц с ожирением без нарушений углеводного обмена в нашем исследовании заключается в достаточном приросте эндогенной секреции инсулина в ответ на возрастающую ИР, тогда как у пациентов с СД 2 ресурсы секреции инсулина истощены.

В данной части исследования смущает одинаковая выраженность абдоминального ожирения у всех пациентов с ожирением вне зависимости от статуса нарушений углеводного обмена. Необходимо сказать, что для оценки депо висцерального ожирения в этой части исследования использовались показатели ОТ и ОТ/ОБ. Данные показатели могут не всегда точно отражать количество висцерального жира. Существуют более аккуратные способы определения висцерального ожирения, основанные на лучевых методах [142], однако во многих исследованиях клиническая значимость показателя ОТ сопоставима с лучевыми методами диагностики [143, 144].

Во второй части нашего исследования не получено убедительных данных о вкладе инкретиновых гормонов в поддержание секреции инсулина у пациентов с ожирением без нарушений углеводного обмена. Наша гипотеза заключалась в том, что, возможно, именно сохранная инкретиновая сигнализация способствует дополнительной секреции инсулина и удержанию нормогликемии у пациентов с ожирением. В данной работе такого подтверждения мы не получили: значимой разницы между секрецией ГПП-1 в различных группах не получено, а повышенная секреция ГИП скорее характеризовала сам факт наличия ожирения. Это согласуется с данными исследований, посвященных физиологии ГИП [145]. Отсутствие статистически значимых различий в концентрации ГПП-1 в нашей работе представляется нам особенностью данной выборки, так как зависимость секреции этого гормона как от выраженности нарушений углеводного обмена, так и от степени ожирения, продемонстрирована в крупных исследованиях [146].

Наконец, одним из наблюдений данной работы являлась четкая связь уровня ТГ и степени метаболического риска в исследуемых группах.

Концентрация ТГ плавно возрастала от контрольной группы к группе пациентов с ожирением и СД 2. Такой линейной зависимости не наблюдалось в отношении других компонентов липидного спектра. Накопление ТГ в гепатоцитах является основным звеном патогенеза неалкогольной жировой болезни печени, сопровождающейся выраженной ИР [147]. Некоторые исследователи предлагают использовать соотношение ТГ и различных антропометрических или лабораторных показателей в качестве суррогатных маркеров ИР [148].

Таким образом, во второй части работы стояла цель определить клиничко-лабораторные отличительные черты пациентов с ожирением, у которых не развивается СД 2. По нашим результатам, отличие фенотипа пациентов с ожирением без нарушений углеводного обмена от лиц с СД 2 заключалось в менее выраженной ИР и более сохранной базальной и стимулированной секреции инсулина, достаточной для поддержания нормогликемии.

Как и на предыдущем этапе исследования, в данной части работы были ограничения. Одним из параметров, который мог повлиять на результаты исследования, было использование теста со смешанной пищей у пациентов с известным СД 2. Данный тест в отличие от классического перорального ГТТ содержит меньшее количество углеводов, а также включает белки и жиры. Данный тест был выбран для оценки динамики инсулина и инкретиновых гормонов с этической точки зрения, чтобы не вызывать у пациентов с имеющимся СД 2 выраженную гипергликемию. Следует отметить, что не только углеводная пища, но и другие макронутриенты способны стимулировать секрецию инкретиновых гормонов [149]. Тем не менее выбор отличающегося теста у пациентов группы «+ожирение + СД + ССП» мог повлиять на лабораторные результаты данной группы.

В нашем исследовании группы поделены по наличию нарушений углеводного обмена в зависимости от результатов определения уровня HbA1c. За отрезную точку приняли HbA1c = 6%, что позволяло выделить пациентов

как с СД 2, так и пациентов группы риска (предиабета). Деление пациентов на группы в зависимости от результатов ГТТ или выбор уровня HbA1c в 6,5% (что соответствует диагнозу СД 2) могли несколько изменить результаты.

Наконец, одним из ограничений исследования являлось отсутствие сопоставления пациентов с ожирением по длительности этого состояния. Отчасти это связано с тем, что данные о длительности ожирения зачастую могут быть получены лишь со слов пациентов, а не из медицинской документации. Мы допускаем, что отсутствие убедительных результатов в отношении секреции гормонов инкретинового ряда на данном этапе работ могло быть связано с неоднородностью пациентов в отношении темпов набора массы тела.

4.3 Проспективное исследование

Для реализации поставленной задачи определения факторов, защищающих от развития СД 2, в проспективное исследование были набраны две когорты пациентов (с и без СД 2), максимально точно сопоставленные по возрасту, полу, ИМТ, длительности ожирения, ОТ, ОТ/ОБ, что давало возможность изучить дополнительные параметры, отличающие лиц с и без нарушений углеводного обмена. Длительность ожирения в обеих группах приближалась к 20 годам.

В ходе клинических исследований нами было обнаружено, что пациенты с нормогликемией в отличие от пациентов с СД 2 имели ряд различий по таким параметрам, как состав депо жировой ткани, выраженность гипертриглицеридемии, степень ИР, профиль секреции гормонов поджелудочной железы, инкретинов и адипокинов [150].

Из рутинных клинических показателей значимые различия наблюдались в уровне триглицеридов: лица без СД 2 имели значимое более низкие значения данного показателя. Повышение уровня триглицеридов по данным многих исследований ассоциировано именно с висцеральным

ожирением, что делает данный маркер фактором риска развития нарушений углеводного обмена даже у лиц без ожирения [151, 152]. Поэтому ожидаемо у лиц без СД 2 обнаруживалась меньшая выраженность висцерального ожирения по сравнению с лицами с СД 2.

Лица без нарушений углеводного обмена характеризовались «защитным» гормонально-метаболическим профилем: они имели менее тяжелую степень ИР по результатам «золотого стандарта» определения ИР - гиперинсулинемического эугликемического клэмп-теста [153]. Для данных пациентов был характерен более благоприятный профиль секреции гормонов, влияющих на углеводный обмен. Пациенты без СД 2 имели более высокую пиковую концентрацию инсулина и менее выраженную гиперглюкагонию, а также более сохранную секрецию ГПП-1. Данные результаты согласуются с результатами предыдущих наблюдений: действительно, при ожирении и СД 2 имеется нарушение секреции инсулина и ГПП-1 [146, 154].

В обеих группах в нашем исследовании как исходно, так и в динамическом наблюдении сохранялась выраженная постпрандиальная гиперглюкагонемия. Отсутствие подавления уровня глюкагона после приема пищи у лиц с СД 2 известно и является одним из патогенетических механизмов развития гипергликемии [155, 156].

Однако повышение уровня глюкагона в ответ на углеводную нагрузку у пациентов с ожирением без нарушений углеводного обмена не столь очевидно и не может быть объяснено функциями данного гормона. Глюкагон не только участвует в регуляции метаболизма глюкозы, стимулируя гликолиз и глюконеогенез, но и вызывает снижение аппетита и увеличение расхода энергии [54, 157]. Исходя из данных функций, уровень глюкагона должен был бы снижаться у пациентов с ожирением, однако исследования, наоборот, демонстрируют повышение его уровня при избыточности жировой ткани, что совпадает с результатами нашей работы [158]. Возможно, недостаточное подавление уровня глюкагона происходит из-за снижения секреции ГПП-1 – важного регулятора уровня глюкагона в постпрандиальный период.

Сложно объяснимым представляется высокий исходный уровень второго инкретинового гормона – ГИП - в обеих группах. В нашем исследовании отсутствовали различия в концентрации этого гормона у пациентов с ожирением и различным статусом углеводного обмена. Остается непонятным, может ли высокая концентрация ГИП у лиц с ожирением оказывать протективный эффект в отношении развития у них СД 2. Вероятно, ответ на этот вопрос отрицательный, так как высокий уровень ГИП наблюдался в обеих группах. Возможно, к ГИП существует резистентность при ожирении. Существует неопределенность в отношении воздействия на уровень ГИП в терапевтических целях: как стимуляция рецепторов данного гормона, так и их блокада может иметь благоприятные эффекты на массу тела и чувствительность к инсулину [159-161].

Также сложно поддаются интерпретации данные о секреции гормонов семейства проглюкагона – глицентина и оксинтомодулина. Необходимо отметить, что исходные значения данных гормонов у пациентов с ожирением без нарушений углеводного обмена были значимо выше, чем у лиц с СД 2, что предполагает их возможный протективный эффект. Ранние исследования демонстрировали инсулинотропный эффект глицентина, как и оксиномодулина [162, 163]. Тем не менее, пока убедительных данных недостаточно и роль этих гормонов при ожирении и нарушениях углеводного обмена требует дальнейшего изучения.

В нашем исследовании стояла задача не только по поперечному сравнению двух групп пациентов (с и без СД 2), но и по оценке хронологической последовательности регресса патофизиологических изменений у лиц с ожирением после бариатрических вмешательств. Повторные обследования пациентов через 3 и 6 месяцев после вмешательства позволяли судить о динамике ИР, секреции гормонов поджелудочной железы и инкретиновых гормонов [164]. В первые 3 месяца наблюдения у пациентов обеих групп наблюдалось снижение выраженности висцерального ожирения, благодаря чему к 3-м и 6-ти месяцам две группы перестали отличаться по

данному параметру. Также к 3-м месяцам исчезли значимые различия в уровне гликемии. Выраженность ИР сравнилась в двух группах к окончанию наблюдения. Синхронно с ИР изменялась секреция гормонов, вовлеченных в регуляцию углеводного обмена и массы тела: во всех группах отмечался прирост уровня ГПП-1, снижение секреции ГИП и постпрандиального уровня глюкогона, в группе лиц без исходного СД 2 возрастал также пиковый выброс инсулина. Все эти изменения были ожидаемы, за исключением разнонаправленной динамики инкретиновых гормонов. Если повышение уровня ГПП-1 – воспроизводимое наблюдение после бариатрических вмешательств, в том числе продемонстрированное и в российской популяции, то направление динамики секреции ГИП в разных исследованиях может отличаться [165, 166]. Отмеченный в нашей работе рост уровня ГИП в послеоперационном периоде также наблюдался в исследовании среди 62 пациентов (40 с СД 2, 22 – без СД 2), которым было проведено гастрощунтирование [167]. Разнонаправленная динамика инкретинов (повышение уровня ГПП-1 и снижение уровня ГИП) может иметь механическое объяснение: при шунтирующих операциях стимуляция пищей проксимального отдела тонкой кишки снижается (локализация К-клеток, синтезирующих ГИП), а контакт с пищей L-клеток дистального отдела тонкой кишки увеличивается, что обуславливает рост секреции ГПП-1.

Учитывая, что все изменения патогенетических механизмов развития СД 2 (композиционный состав тела, ИР, динамика гормональных показателей) происходили одновременно в период первых 3х месяцев наблюдения, нами не была продемонстрирована первичная роль какого-либо из данных факторов в развитии компенсации гликемии у лиц с СД 2. Безусловно, более частое и интенсивное наблюдение за пациентами в ходе первых недель - месяцев после бариатрических вмешательств позволило бы выявить определенную очередность в регрессе данных механизмов.

Выявленные в клинической части проекта закономерности послужили основой для выполнения лабораторной части проекта, направленной на

оценку свойств МСК жировой ткани пациентов для выявления возможных причин поддержания нормального углеводного обмена при длительном ожирении.

Определение различий в физиологии подкожной и висцеральной жировой ткани у пациентов с ожирением с или без СД 2 включало определение размера адипоцитов, уровня воспаления в жировой ткани, способности МСК жировой ткани к пролиферации и дифференцировке.

Исследование связи развивающегося СД 2 с латентным воспалением жировой ткани было описано в конце 80-х годов 20 века [168]. Первые работы в этой области показали, что секретируемый гипертрофированной жировой тканью фактор некроза опухолей (TNF α) способен вызывать ИР, оказывая локальные и системные эффекты на саму жировую ткань и на метаболизм в целом. С этого момента началось активное исследование биоактивных субстанций, секретируемых жировой тканью, и концепция адипокинов включила в себя такие провоспалительные агенты как ИЛ-1 β , ИЛ-6 и т.д. Ассоциация ожирения, сопряженного с метаболическими нарушениями, с повышенным уровнем системного воспаления была достаточно точно показана и на клиническом уровне [169, 170]. Однако, клеточные механизмы развития субклинического воспаления у пациентов с различными фенотипами ожирения оставались мало изученными.

При оценке воспалительного статуса жировой ткани в нашем исследовании было выявлено, что при СД 2 увеличена инфильтрация жировой ткани макрофагами. Количество провоспалительных М1-подобных макрофагов (CD68+, CCR7+) было сопоставимо в подкожной и висцеральной жировой ткани у пациентов с СД 2 и у лиц без нарушений углеводного обмена. В то же время, количество макрофагов, несущих маркер противовоспалительного М2 фенотипа CD206, было снижено в висцеральной жировой ткани пациентов с СД 2. Полученные результаты подтверждают важную роль воспалительного процесса и миграции макрофагов в развитии нарушений углеводного обмена при ожирении.

Эти данные полностью подтверждаются как клиническими исследованиями, выявившими повышенный уровень маркеров воспаления у пациентов, страдающих ожирением и СД 2, так и фундаментальными исследованиями [171]. Полученные данные свидетельствуют о существовании прямой связи между ожирением, последующим латентным воспалением и развитием СД 2. Тем не менее, четкого ответа на вопрос о причине развития воспаления жировой ткани при ожирении не было [172], в связи с чем мы продолжили работы, направленные на исследование функций адипоцита.

Было обнаружено, что адипоциты у лиц с СД 2 гипертрофированы. Гистологическая оценка показала, что средняя площадь адипоцитов в подкожной жировой ткани пациентов с СД 2 в 1.4 раза больше, чем у пациентов без нарушений углеводного обмена. В составе висцеральной жировой ткани площадь адипоцитов у пациентов с СД 2 в 1.2 раза больше, чем в контрольной группе. Увеличение размера адипоцита ведет к гипоксии, что в свою очередь стимулирует поддержание субклинического воспаления.

Гипотеза, лежащая в основе объяснения увеличения клеток жировой ткани при СД 2, заключалась в том, что при данном состоянии может быть нарушено деление клеток. Действительно, у пациентов с СД 2 также отмечалась сниженная пролиферативная активность МСК жировой ткани. Это приводит к тому, что каждый адипоцит вынужден увеличиваться в размере для вмещения в себя новых запасов липидов. Снижение пролиферативного потенциала прогениторных клеток было показано и в исследованиях на экспериментальных животных [173]. Уменьшение пролиферативной активности данных клеток может свидетельствовать о раннем «старении» клеток-предшественников адипоцитов при СД 2, что нарушает формирование новых жировых депо и в условиях избыточного поступления питательных веществ способствует гипертрофии адипоцитов.

Причина снижения пролиферативного потенциала МСК могла заключаться в особенностях регуляции экспрессии генов, ответственных за адипоцитарную дифференцировку. Для исследованных генов-маркеров

наблюдалась сниженная экспрессия в МСК жировой ткани пациентов с СД 2, следовательно, можно было сделать вывод о том, что МСК ЖТ при СД 2 имеют сниженный адипогенный потенциал.

На процесс адипогенеза влияет ряд факторов, в том числе эпигенетические. Один из компонентов эпигенетической регуляции - микроРНК - может ингибировать дифференцировку адипоцитов, воздействуя на факторы транскрипции и регулируя сигнальные пути, связанные с адипогенезом.

В нашей работе мы поставили перед собой задачу определить спектр микроРНК, экспрессия которых различается у пациентов с ожирением и различным состоянием углеводного обмена [174].

В нашем исследовании экспрессия семи микроРНК значительно различалась между двумя группами пациентов с ожирением с наличием или отсутствием СД 2. Одна из этих микроРНК, miR-99b-5p, имела повышенный уровень экспрессии у пациентов с СД 2, но существенных изменений в экспрессии генов-мишеней для этой микроРНК в нашем исследовании обнаружено не было. MiR-99b-5p является членом кластера miR-125a-let-7e и, согласно последним исследованиям, играет определенную роль в дифференцировке, миграции и пролиферации опухолевых клеток [175]. Даун регуляция miR-99a/b наблюдалась при онкологических заболеваниях, что позволяет предположить, что miR-99a/b может функционировать в качестве супрессоров опухолей. Этот эффект может объясняться тем фактом, что IGF-1R (рецептор инсулиноподобного фактора роста 1) является прямой мишенью miR-99b-5p. Для нашего исследования эта связь актуальна, поскольку IGF-1R зависит от ИМТ и играет роль в регуляции массы β -клеток, секреции инсулина и регуляции чувствительности к инсулину. Мы предполагаем, что у пациентов с ожирением и СД 2 повышение экспрессии miR-99b-5p может происходить по механизму отрицательной обратной связи [176].

MiR-197-3p и miR-23b-3p были снижены у пациентов с ожирением и СД 2; таким образом, мы могли ожидать у этих пациентов повышенной экспрессии их мишеней, TNFAIP6, RUNX2 и FBXL13. Но по нашим результатам мы не наблюдали разницы в экспрессии генов-мишеней этих микроРНК между пациентами с и без СД 2. Более того, RUNX2 имел более низкую экспрессию у пациентов с ожирением и СД 2 по сравнению с пациентами без нарушений углеводного обмена.

Недавние исследования показывают, что miR-23b является очень мощным посттранскрипционным регулятором роста и дифференцировки во время прогрессирования клеточного цикла [177]. Снижение уровня этой микроРНК у пациентов с СД 2 может указывать на нарушение регуляции нормального тканевого гомеостаза.

Четыре микроРНК (miR-204-5p, miR-125b-5p, miR-125a-5p, miR-320a) имели повышенную экспрессию у пациентов с ожирением и СД 2. Эти микроРНК связаны с матричными металлопротеиназами (MMP-2,-9,-11,-26) и сигнальными компонентами TGF β /BMP (SMAD4, RUNX2). Как и ожидалось, данные целевые гены имели пониженный уровень экспрессии в группе пациентов с СД 2 по сравнению с лицами без нарушений углеводного обмена.

Матричные металлопротеиназы (ММП) представляют собой цинксодержащие эндопептидазы, способные разрушать компоненты внеклеточного матрикса, а также активировать многие биологически активные молекулы (интерлейкины, факторы роста и т.д.) [178]. Субстратная специфичность различных металлопротеиназ весьма разнообразна, MMP-2 и MMP-9 участвуют в расщеплении денатурированного коллагена, эластина и коллагена IV типа [179]. В исследованиях демонстрируется различный профиль экспрессии ММП, что может быть связано с высокой гетерогенностью белой жировой ткани [180, 181]. Но большинство результатов свидетельствуют о том, что повышенная экспрессия ММП приводит к развитию осложнений у лиц с ожирением и СД 2. Индукция ММП

во время дифференцировки адипоцитов предполагает, что эти ферменты могут способствовать адипогенезу [182].

В нашем исследовании экспрессия ММП была выше у пациентов с ожирением без исходных нарушений углеводного обмена и такие результаты согласуются с одним из исследований, где наблюдалась повышенная активность MMP-2 и MMP-9 у лиц с ожирением, не страдающих СД 2; при этом такие процессы не обнаруживались у пациентов с ожирением и СД 2 [183]. Мы предполагаем, что повышение активности ММП может быть связано с дифференцировкой стромальных клеток жирового происхождения и процессом фиброза.

SMAD4 и RUNX2, которые являются компонентами сигнального пути TGF β , стали второй группой генов, экспрессия которых была увеличена в жировой ткани у пациентов с ожирением и СД 2 по сравнению с лицами без нарушений углеводного обмена. Высокий уровень экспрессии этих генов соответствовал пониженной экспрессии mir-204-5p, mir-125b-5p, mir-125a-5p. Суть активации как TGF β -, так и VMR-зависимых сигнальных каскадов заключается в стимуляции соответствующих рецепторов с последующим фосфорилированием белков SMAD различных типов [184]. Активированные SMAD связываются с SMAD4, после чего происходит ядерная транслокация комплекса, приводящая к стимуляции экспрессии и последующей активации фактора транскрипции RUNX2 и экспрессии генов-мишеней.

Однако, согласно Атласу белков человека, ни SMAD4, ни RUNX2 не обнаружены в качестве белковых продуктов в жировой ткани [185]. Наши данные позволяют предположить, что эти гены могут экспрессироваться в составе жировой ткани, но в определенной незначительной популяции клеток. Такой популяцией может быть популяция стромальных жировых клеток, и в этой популяции показана экспрессия как SMAD4, так и RUNX2 [186, 187].

Одним из существенных свойств стромальных жировых клеток является их способность дифференцироваться в трех основных направлениях: адипогенном, остеогенном и хондрогенном. В жировой ткани стромальные

клетки - это популяция клеток-предшественников, которая поддерживает процесс естественной регенерации адипоцитов посредством адипогенной дифференцировки. В свою очередь, RUNX2 является главным регулятором транскрипции остеогенной дифференцировки мезенхимальных предшественников, а SMAD4 является членочным белком для проведения SMAD в гетеродимерах к RUNX2 [188, 189]. Между адипогенезом и остеогенезом имеются взаимные антагонистические отношения, поэтому можно предположить, что активация сигнального каскада SMAD4-RUNX2 приводит к дифференцировке клеток-предшественников жировой ткани в остеогенном направлении.

Одновременная активация генов ММП и SMAD4-RUNX2 у пациентов с ожирением и СД 2 является неудивительной, поскольку MMP-9 представляет собой прямую мишень RUNX2.

Клинические исследования показывают, что избыток коллагена, выработка которого стимулируется в том числе ММП, ограничивает здоровый рост жировой ткани и связан с развитием ИР [190, 191]. Полученные нами транскрипционные профили подтверждают наличие фиброза и связанных с ним метаболических осложнений у лиц с ожирением и СД 2. Ограничение данного исследования заключается в том, что микроскопическое и иммуногистохимическое исследование на наличие фиброза белой жировой ткани не было проведено.

Таким образом, регуляция адипогенеза и фиброза жировой ткани отличается у пациентов с различным статусом углеводного обмена при равной длительности ожирения, что приводит к снижению регенеративного потенциала и способности к адипогенной дифференцировке клеток жировой ткани пациентов с ожирением и СД 2. Помимо этого, жировая ткань пациентов с СД 2 может обладать большей склонностью к фиброзу. Данные различия могут являться причиной уменьшения формирования новых жировых депо и развития нечувствительности к инсулину [192].

4.4 Экспериментальное исследование

Экспериментальное исследование на животных ставило целью смоделировать патогенетические изменения, происходящие во время увеличения массы тела. Для этого в эксперименте были использованы самцы крыс линии Sprague-Dawley – линии животных, склонной к метаболическим изменениям [193]. В нашем исследовании животные были разделены на две группы, получающие нормо- и высококалорийное питание. Группа нормокалорийного питания представляла собой контрольную группу, в которой динамика массы тела, метаболических и гормональных параметров принималась за условную «норму». В то же время группа высококалорийного питания являлась моделью алиментарного ожирения.

При анализе результатов исследования в группе нормокалорийного питания наблюдалось закономерное увеличение массы тела, которое происходило по мере взросления животных. По мере увеличения веса в этой группе не происходило значимого ухудшения состояния углеводного обмена: гликемия натощак оставалась стабильной, через 14 недель наблюдения наблюдалось несколько более выраженное повышение гликемии в первые 10-30 минут ГТТ по сравнению с гликемией в исходном ГТТ, однако к окончанию теста глюкоза плазмы возвращалась к значениям, близким к показателям натощак. Таким образом, группа нормокалорийного питания характеризовалась соответствующей возрасту прибавкой массы тела и отсутствием нарушений углеводного обмена [194].

Для оценки выраженности ИР у животных был применен суррогатный индекс НОМА-IR, валидация которого для использования в крысиных моделях была продемонстрирована ранее [195]. В контрольной группе за первые 7 недель наблюдения не отмечалось прироста ИР, тогда как с 7-й по 14-ю неделю данный прирост был выраженным. Следует отметить, что у контрольных животных наблюдалась гетерогенность показателя НОМА-IR через 14 недель наблюдения, тем не менее прирост ИР по сравнению с 7-й

неделей наблюдения был статистически значимым. У данных животных возрастание ИР компенсировалось адекватным приростом базальной и стимулированной секреции инсулина, что позволяло сохранять нормогликемию. При этом паттерн секреции глюкагона в нормокалорийной группе значимо не менялся, имелась лишь тенденция к исчезновению его подавления в ответ на пищевую нагрузку (кривая концентрации глюкагона «уплощалась»). По мере взросления животных контрольной группы наблюдалось снижение секреции ГПП-1 натощак и, наоборот, увеличение секреции ГИП натощак.

У животных группы высококалорийного питания динамика массы тела значимо опережала данный показатель в группе нормокалорийного питания. Вес животных в этой группе уже на 7-й неделе наблюдения превышал вес животных контрольной группы в конце эксперимента. Также крысы, получавшие высококалорийную диету, имели значимо более выраженные нарушения углеводного обмена по сравнению с контрольными животными: к 7-й неделе эксперимента у этой группы наблюдалось отсутствие снижения гликемии на втором часу ГТТ, к 14-й неделе приросли пиковые значения гликемии на 30-й минуте теста. Таким образом, группу высококалорийного питания уже через 7 недель эксперимента можно было отнести к животным с приобретенным ожирением и сахарным диабетом. Данные изменения сопровождались нарастанием гиперинсулинемии к 7-й неделе эксперимента, значения которого вышли на плато и значимо не изменились к 14-й неделе. Степень ИР увеличивалась в соответствии с концентрацией инсулина и достигла максимума к 7-й неделе и далее значимо не менялась. Примечательно, что к 14-й неделе наблюдения степень ИР была сопоставима в обеих группах животных, однако в группе нормокалорийного питания при той же степени ИР нарушений углеводного обмена не наблюдалось.

У животных группы высококалорийного питания нарастала базальная секреция инсулина, определяемая по индексу НОМА-%В, но ранняя фаза

секреции инсулина оставалась неизменной и не повышалась по сравнению с исходными значениями.

Следует отметить, что динамика секреции глюкагона в обеих группах животных была обратной по отношению к секреции инсулина и снижалась по ходу эксперимента. Соотношение глюкагон/инсулин как натошак, так и по площади под кривой, снижалось в обеих группах, что говорит о том, что в начальном периоде развития ожирения и нарушений углеводного обмена гиперглюкагонемии еще нет. Вероятно, она является следствием более длительного течения ожирения и нарушений углеводного обмена.

Наконец, динамика секреции инкретиновых гормонов ГПП-1 и ГИП натошак не отличалась в обеих группах животных. Хронологически снижение уровня ГПП-1 и повышение уровня ГИП происходило вторично по отношению к увеличению массы тела и появлению гипергликемии.

Таким образом, оценивая хронологическую последовательность нарастания патофизиологических изменений у животных по мере увеличения массы тела, мы обнаружили, что первоначально возрастает ИР, которая сопровождается гиперинсулинемией, а вторично происходит снижение подавления уровня глюкагона и изменение секреции инкретиновых гормонов. При этом важно отметить, что выраженность ИР в группе контроля к окончанию исследования не отличалась от группы высококалорийного питания, при этом столь значимой гипергликемии в этой группе не наблюдалось. Следовательно, можно говорить о том, что одного лишь повышения ИР недостаточно для развития гипергликемии. Вероятно, следует рассматривать ИР как феномен, предрасполагающий к развитию СД, но ключевую роль в формировании нарушений углеводного обмена будет играть недостаточность гормональной адаптации в ответ на возрастающую массу жировой ткани и ИР. Иными словами, в группе животных высококалорийного питания концентрации инсулина на единицу массы тела было недостаточно для удержания оптимального контроля углеводного обмена, а в контрольной

группе при той же ИР, но значимо меньшей массе тела, сопоставимый уровень инсулина обеспечивал сохранение нормогликемии.

Экспериментальное исследование также включало оценку размеров адипоцитов различных жировых депо и выраженность эктопического ожирения на фоне высоко- и нормокалорийного типов питания. Размеры адипоцитов крыс, находящихся на высококалорийном питании, были гипертрофированы по сравнению с контрольной группой, что согласуется с данными, полученными нами на ткани человека.

Степень эктопического отложения жира в ткани печени и поджелудочной железы также была значимо более высокой в группе животных, получавших высококалорийное питание. Эктопическое ожирение является одним из факторов риска развития нарушений углеводного обмена [196].

О негативном влиянии накопления эктопического жира говорит тот факт, что периферические ткани, усваивающие глюкозу под действием инсулина, перестают нормально функционировать при инфильтрации этих тканей жиром. Клиническим примером болезни, вызванной эктопией жира, является неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП), основным патогенетическим звеном которой является патологическое накопление липидов в гепатоцитах и ИР. Исследования говорят также об ассоциации других эктопических депо, например, эпикардального жира, с развитием ИР и метаболических осложнений у лиц с ожирением [197].

Значимость эктопического накопления жира столь высока, что в масштабном исследовании, проведенном среди почти 15,5 тысяч человек и оценивающим отдельный вклад факта наличия ожирения, наличия висцерального ожирения или наличия эктопического ожирения, именно эктопия жировой ткани приводила к наибольшему риску развития СД 2 [198]. Таким образом, инфильтрация внутренних органов жировой тканью может считаться наиболее опасным вариантом ожирения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данное научное исследование ставило перед собой целью определить факторы, способствующие длительному существованию ожирения без развития нарушений углеводного обмена. Как СД 2, так и ожирение – многофакторные заболевания, поэтому сложно представить исчерпывающий список параметров, влияющих на формирование данных состояний. Тем не менее, в своей работе мы постарались максимально полно охарактеризовать роль жировой ткани в развитии СД 2.

Исследование состояло из клинической и экспериментальной частей. В поиске факторов, отличающих пациентов с ожирением и сохранным углеводным обменом, мы шли от наиболее простых в оценке параметров, таких как характеристика образа жизни и пищевые привычки, к более сложным лабораторным и инструментальным методам исследования.

Среди защитных факторов у пациентов с нормальной толерантностью к глюкозе отмечалась меньшая представленность висцерального депо жировой ткани, более легкая степень ИР, сохранная секреция гормонов, участвующих в регуляции углеводного обмена. Протективный профиль секреции гормонов заключался в более высокой пиковой концентрации инсулина и менее выраженной гиперглюкагонемии, более сохранной секреции ГПП-1.

По итогам сравнения свойств жировой ткани пациентов мы предположили, что одним из ключевых факторов развития СД 2 при ожирении является снижение возможности МСК жировой ткани адаптироваться к метаболической перегрузке. СД 2 развивается у тех людей, у которых нарушается деление и образование этих стволовых клеток. Обновление жировой ткани необходимо для поддержания нормальной физиологии человека – юная ткань обладает противовоспалительными свойствами, менее подвержена патологическим изменениям, повреждающим воздействиям окружающей среды. Если же процесс обновления нарушается, то жировые

клетки стареют, увеличиваются в размерах, в них активируются процессы воспаления и разрушения клеток, что и приводит к диабетогенному эффекту.

Помимо сравнительной характеристики пациентов с ожирением с СД 2 и без нарушений углеводного обмена перед нами стояла задача определить хронологическую последовательность появления патогенетических факторов, необходимых для дебюта СД 2 по мере развития ожирения и восстановления нормогликемии на фоне снижения массы тела.

Если отследить последовательность развития и угасания патогенетических механизмов по мере увеличения и снижения массы тела, то динамика не будет зеркальной. По нашим данным для развития нарушений углеводного обмена требуется длительное время и первичным изменением будет нарастание ИР с последующим изменением гормональной секреции. При снижении массы тела нам не удалось отдать приоритет тому или иному механизму регресса гипергликемии, хотя, возможно, при более частых обследованиях пациента это было бы возможно сделать (схема 4).



Схема 4. Последовательность изменения патогенетических механизмов нарушений углеводного обмена по мере увеличения и снижения массы тела

Однако, нам представляется важным отметить тот факт, что быстрое достижение компенсации углеводного обмена у пациентов с СД 2 после бариатрических вмешательств не приводило к полноценному восстановлению

гормональной секреции, несмотря на значимое снижение ИР. Это свидетельствует о том, что компенсация гликемии возможна даже в условиях неполного обратного развития патогенетических механизмов. Для клинической практики данное наблюдение говорит о том, что «ремиссия» СД 2 после операций не говорит о полном выздоровлении, следовательно требуется длительное, иногда пожизненное, наблюдение за данными пациентами.

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 НвА1с), 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 СОКРАЩЕНИЙ

АГ - артериальная гипертензия
ГИП - глюкозозависимый инсулиотропный полипептид
ГПН – гликемия плазмы натощак
ГПП-1 - глюкагоноподобный пептид 1 типа
ГТТ - глюкозотолерантный тест
ГТТ – глюкозотолерантный тест
ГЭРБ - гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
ИБС - ишемическая болезнь сердца
ИИ – индекс инсулиногенности
ИМ - инфаркт миокарда
ИМТ – индекс массы тела
ИР – инсулинорезистентность
ЛПВП - липопротеиды высокой плотности
ЛПНП - липопротеиды низкой плотности
МКБ - мочекаменная болезнь
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
СОАС - синдром обструктивного апноэ сна
ССП – сахароснижающие препараты
ТТГ – тиреотропный гормон
ХЦК - холецистокинин
HbA1c – гликированный гемоглобин
НОМА-%В – индекс базальной секреции инсулина
НОМА-IR – индекс инсулинорезистентности

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дедов И.И., Шестакова М.В., Мельниченко Г.А., Мазурина Н.В., Андреева Е.Н., Бондаренко И.З., Гусова З.Р., Дзгоева Ф.Х. и соавт. Междисциплинарные клинические рекомендации «Лечение ожирения и коморбидных заболеваний». Ожирение и метаболизм. 2021;18(1):5-99. <https://doi.org/10.14341/omet12714>
2. Bellou V, Belbasis L, Tzoulaki I, Evangelou E. Risk factors for type 2 diabetes mellitus: An exposure-wide umbrella review of meta-analyses. PLoS One. 2018;13(3):e0194127. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194127>
3. Kontsevaya A, Shalnova S, Deev A, et al. Overweight and Obesity in the Russian Population: Prevalence in Adults and Association with Socioeconomic Parameters and Cardiovascular Risk Factors. Obes Facts. 2019;12(1):103-114. doi: 10.1159/000493885. Epub 2019 Mar 7. PMID: 30844809; PMCID: PMC6465691.
4. Островская Е.В., Романцова Т.И., Герасимов А.Н., Новоселова Т.Е. Распространенность метаболически здорового ожирения по данным выборки Московского региона. // Ожирение и метаболизм. — 2017. — Т.14. — №. 4 — С.51-56. doi: 10.14341/OMET2017451-56
5. Stefan N. Metabolically Healthy and Unhealthy Normal Weight and Obesity. Endocrinol Metab (Seoul). 2020 Sep;35(3):487-493. doi: 10.3803/EnM.2020.301. Epub 2020 Aug 20. PMID: 32814419; PMCID: PMC7520592
6. Аметов, А. С. Комплексная метаболическая протекция как современная стратегия управления сахарным диабетом 2 типа / А. С. Аметов, О. В. Цыганкова // Эндокринология. Новости. Мнения. Обучение. – 2021. – Т. 10. – № 2(35). – С. 93-104. – DOI 10.33029/2304-9529-2021-10-2-93-104.
7. Neeland IJ, Ross R, Després JP, et al. International Atherosclerosis Society; International Chair on Cardiometabolic Risk Working Group on Visceral Obesity. Visceral and ectopic fat, atherosclerosis, and cardiometabolic disease: a position statement. Lancet Diabetes Endocrinol. 2019 Sep;7(9):715-725. doi: 10.1016/S2213-8587(19)30084-1. Epub 2019 Jul 10. PMID: 31301983
8. Драпкина О. М., Ким О. Т. Эпигенетика ожирения. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2020;19(6):2632. doi:10.15829/1728-8800-2020-2632
9. Bradshaw PT, Reynolds KR, Wagenknecht LE, et al. Incidence of components of metabolic syndrome in the metabolically healthy obese over 9

- years follow-up: the Atherosclerosis Risk In Communities study. *Int J Obes (Lond)*. 2018;42(3):295-301. doi:10.1038/ijo.2017.249
10. Kim JA, Kim DH, Kim SM, et al. Impact of the dynamic change of metabolic health status on the incident type 2 diabetes: a nationwide population-based cohort study. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2019;34(4):406-414. doi:10.3803/EnM.2019.34.4.406
 11. Rotar O, Boyarinova M, Orlov A, et al. Metabolically healthy obese and metabolically unhealthy non-obese phenotypes in a Russian population. *Eur J Epidemiol*. 2017;32(3):251-254. doi:10.1007/s10654-016-0221-z
 12. Herrmann W, Reuter W, Schütz C, et al. Zum Verhalten spezifischer Parameter des Lipid- und Lipoproteinmetabolismus bei Stoffwechselgesunden und Adipösen [The behavior of specific parameters of lipid and lipoprotein metabolism in metabolically healthy and obese subjects]. *Z Gesamte Inn Med*. 1982 Jan 15;37(2):43-50. German. PMID: 7080550.
 13. Sivan E, Chen X, Homko CJ, Reece EA, Boden G. Longitudinal study of carbohydrate metabolism in healthy obese pregnant women. *Diabetes Care*. 1997 Sep;20(9):1470-5. doi: 10.2337/diacare.20.9.1470. PMID: 9283800.
 14. van Vliet-Ostaptchouk JV, Nuotio ML, Slagter SN et al. The prevalence of metabolic syndrome and metabolically healthy obesity in Europe: a collaborative analysis of ten large cohort studies. *BMC Endocr Disord*. 2014 Feb 1;14:9. doi: 10.1186/1472-6823-14-9. PMID: 24484869; PMCID: PMC3923238.
 15. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001 May 16;285(19):2486-97. doi: 10.1001/jama.285.19.2486. PMID: 11368702.
 16. Романцова Т.И., Островская Е.В. Метаболически здоровое ожирение: дефиниции, протективные факторы, клиническая значимость. Альманах клинической медицины. 2015 Февраль; Спецвыпуск 1: 75–86
 17. Мустафина С.В., Щербакова Л.В., Козупеева Д.А., Малютина С.К., Рагино Ю.И., Рымар О.Д. Распространенность метаболически здорового ожирения по данным эпидемиологического обследования выборки 45–69 лет г. Новосибирска // Ожирение и метаболизм. — 2018. — Т.15. — No. 4 — С. 31-37. doi: 10.14341/ОМЕТ9615
 18. Шестакова Е.А., Лунина Е.Ю., Галстян Г.Р., Шестакова М.В., Дедов И.И. Распространенность нарушений углеводного обмена у лиц с различными сочетаниями факторов риска сахарного диабета 2 типа в

- когорте пациентов исследования NATION // Сахарный диабет. — 2020. — Т. 23. — No1. — С. 4-11. doi: <https://doi.org/10.14341/DM12286>
19. Schwartz MW, Seeley RJ, Zeltser LM, et al. Obesity Pathogenesis: An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocr Rev.* 2017 Aug 1;38(4):267-296. doi: 10.1210/er.2017-00111. PMID: 28898979; PMCID: PMC5546881.
 20. Papadaki A, Nolen-Doerr E, Mantzoros CS. The Effect of the Mediterranean Diet on Metabolic Health: A Systematic Review and Meta-Analysis of Controlled Trials in Adults. *Nutrients.* 2020 Oct 30;12(11):3342. doi: 10.3390/nu12113342. PMID: 33143083; PMCID: PMC7692768.
 21. Slagter SN, Corpeleijn E, van der Klauw MM, et al. Dietary patterns and physical activity in the metabolically (un)healthy obese: the Dutch Lifelines cohort study. *Nutr J.* 2018 Feb 12;17(1):18. doi: 10.1186/s12937-018-0319-0. PMID: 29433580; PMCID: PMC5809859.
 22. Reynolds A, Mann J, Cummings J, et al. Carbohydrate quality and human health: a series of systematic reviews and meta-analyses. *Lancet.* 2019 Feb 2;393(10170):434-445. doi: 10.1016/S0140-6736(18)31809-9. Epub 2019 Jan 10. Erratum in: *Lancet.* 2019 Feb 2;393(10170):406. PMID: 30638909.
 23. Durrer Schutz D, Busetto L, Dicker D, et al. European Practical and Patient-Centred Guidelines for Adult Obesity Management in Primary Care. *Obes Facts.* 2019;12(1):40-66. doi: 10.1159/000496183. Epub 2019 Jan 23. PMID: 30673677; PMCID: PMC6465693.
 24. Huai P, Han H, Reilly KH, et al. Leisure-time physical activity and risk of type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Endocrine.* 2016 May;52(2):226-30. doi: 10.1007/s12020-015-0769-5. Epub 2015 Oct 19. PMID: 26481473.
 25. Wahid A, Manek N, Nichols M, et al. Quantifying the Association Between Physical Activity and Cardiovascular Disease and Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Heart Assoc.* 2016 Sep 14;5(9):e002495. doi: 10.1161/JAHA.115.002495. PMID: 27628572; PMCID: PMC5079002.
 26. Li Y, Schoufour J, Wang DD, et al. Healthy lifestyle and life expectancy free of cancer, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: prospective cohort study. *BMJ.* 2020 Jan 8;368:l6669. doi: 10.1136/bmj.l6669. PMID: 31915124; PMCID: PMC7190036.
 27. Брель Н.К., Коков А.Н., Груздева О.В. Достоинства и ограничения различных методов диагностики висцерального ожирения // Ожирение и метаболизм. — 2018. — Т.15. — No. 4 — С. 3-8. doi: 10.14341/OMET9510
 28. Bays H. Adiposopathy, ‘Sick Fat’, Ockham’s Razor, and resolution of the Obesity Paradox. *Curr Atheroscler Rep* 2014; 16:409. DOI 10.1007/s11883-

014-0409-1

29. Sun Y, Liu B, Snetselaar LG, et al. Association of Normal-Weight Central Obesity With All-Cause and Cause-Specific Mortality Among Postmenopausal Women. *JAMA Netw Open*. 2019;2(7):e197337. doi:10.1001/jamanetworkopen.2019.7337
30. Borga, M., West, J., Bell, J., et al. Advanced body composition assessment: From body mass index to body composition profiling. *Journal of Investigative Medicine*. 2018; 66: 887-895. <https://doi.org/10.1136/jim-2018-00072>
31. Lonardo A, Mantovani A, Lugari S, Targher G. Epidemiology and pathophysiology of the association between NAFLD and metabolically healthy or metabolically unhealthy obesity. *Ann Hepatol*. 2020 Jul-Aug;19(4):359-366. doi: 10.1016/j.aohep.2020.03.001. Epub 2020 Mar 21. PMID: 32349939.
32. Alman AC., Smith SR., Eckel RH., et al. The Ratio of Pericardial to Subcutaneous Adipose Tissues is Associated with Insulin Resistance. *Obesity*. 2017; 25: 1284-1291. doi:10.1002/oby.21875
33. Pearce E.N. Thyroid hormone and obesity. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2012; 19: 408 – 413.
34. Ruhla S, Weickert MO, Arafat AM, et al. A high normal TSH is associated with the metabolic syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2010;72:696 –701. ^[1]_[SEP]
35. Liu C, Scherbaum WA, Schott M, Schinner S. Subclinical hypothyroidism and the prevalence of the metabolic syndrome. *Horm Metab Res*. 2011;43:417– 421.
36. van Rossum E.F.C. Obesity and Cortisol: New Perspectives on an Old Theme. *Obesity (Silver Spring)*. 2017; 25(3): 500-501. doi: 10.1002/oby.21774.
37. Abraham SB, Rubino D, Sinaii N, et al. Cortisol, obesity, and the metabolic syndrome: a cross-sectional study of obese subjects and review of the literature. *Obesity (Silver Spring)*. 2013;21(1):E105–E117. doi:10.1002/oby.20083
38. Lee MJ, Pramyothin P, Karastergiou K, Fried SK. Deconstructing the roles of glucocorticoids in adipose tissue biology and the development of central obesity. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1842(3):473–481. doi:10.1016/j.bbadis.2013.05.029
39. Pasquali R, Casanueva F, Haluzik M, et al. European Society of Endocrinology Clinical Practice Guideline: Endocrine work-up in obesity. *Eur J Endocrinol*. 2020 Jan;182(1):G1-G32. doi: 10.1530/EJE-19-0893. PMID: 31855556.

40. Leeners B, Geary N, Tobler PN, Asarian L. Ovarian hormones and obesity. *Hum Reprod Update*. 2017;23(3):300–321. doi:10.1093/humupd/dmw045
41. Kelly D.M., Jones T.H.. Testosterone and obesity. *Obes Rev*. 2015;16(7):581-606. doi: 10.1111/obr.12282
42. Saad F, Aversa A, Isidori AM, Gooren LJ. Testosterone as potential effective therapy in treatment of obesity in men with testosterone deficiency: a review. *Curr Diabetes Rev*. 2012;8:131–143.
43. Attanasio AF, Jung H, Mo D, et al. Prevalence and incidence of diabetes mellitus in adult patients on growth hormone replacement for growth hormone deficiency: a surveillance database analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:2255–2261.
44. Carréa N., Binart N. Prolactin and adipose tissue. *Biochimie*. 2014;97:16-21. doi: 10.1016/j.biochi.2013.09.023.
45. Steinert R.E., Feinle-Bisset C., Asarian L. et al. Ghrelin, CCK, GLP-1, and PYY(3–36): secretory controls and physiological roles in eating and glycemia in health, obesity, and after RYGB. *Physiol Rev* 2017; 97: 411–463.
46. Lean M.E.J., Malkova D. Altered gut and adipose tissue hormones in overweight and obese individuals: cause or consequence? *International Journal of Obesity*. 2016; 40: 622–632.
47. Hocking S., Samocha-Bonet D., Milner K.-L. Adiposity and Insulin Resistance in Humans: The Role of the Different Tissue and Cellular Lipid Depots. *Endocrine Reviews*. 2013; 34(4):463–500.
48. Daniels D, Mietlicki-Baase EG. Glucagon-Like Peptide 1 in the Brain: Where Is It Coming From, Where Is It Going? *Diabetes*. 2019 Jan;68(1):15-17. doi: 10.2337/dbi18-0045. PMID: 30573675; PMCID: PMC6302532.
49. Gault V.A., Irwin N., Green B.D. et al. Chemical ablation of gastric inhibitory polypeptide receptor action by daily (Pro3) GIP administration improves glucose tolerance and ameliorates insulin resistance and abnormalities of islet structure in obesity-related diabetes. *Diabetes*. 2005; 54: 2436–2446.
50. Gault V.A., McClean P.L., Cassidy R.S. et al. Chemical gastric inhibitory polypeptide receptor antagonism protects against obesity, insulin resistance, glucose intolerance and associated disturbances in mice fed high-fat and cafeteria diets. *Diabetologia*. 2007; 50: 1752–1762.
51. Fulurija A., Lutz T.A., Sladko K. et al. Vaccination against GIP for the treatment of obesity. *PLoS One*. 2008; 3(9): e3163
52. Шестакова Е.А., Ильин А.В., Шестакова М.В., Дедов И.И. Глюкозозависимый инсулинотропный полипептид – новое звено в развитии ожирения. *Ожирение и метаболизм*. 2015;12(1):16-19.

<https://doi.org/10.14341/omet2015116-19>

53. Frías JP, Davies MJ, Rosenstock J, et al; SURPASS-2 Investigators. Tirzepatide versus Semaglutide Once Weekly in Patients with Type 2 Diabetes. *N Engl J Med*. 2021 Jun 25. doi: 10.1056/NEJMoa2107519. Epub ahead of print. PMID: 34170647
54. Scott R.V., Bloom S.R. Problem or solution: The strange story of glucagon. *Peptides*. 2018; 100: 36-41.
55. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Бычков Е.Р., и др. Нейрохимические механизмы и фармакология грелинов // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. – 2020. – Т. 18. – No 1. – С. 5–22. <https://doi.org/10.7816/RCF1815-22>
56. Poher AL, Tschöp MH, Müller TD. Ghrelin regulation of glucose metabolism. *Peptides*. 2018 Feb;100:236-242. doi: 10.1016/j.peptides.2017.12.015. PMID: 29412824; PMCID: PMC5805851.
57. Климонтов В.В., Булумбаева Д.М., Фазуллина О.Н. и др. Дефицит грелина у больных сахарным диабетом 2-го типа: взаимосвязь с ожирением, дисфункцией жировой ткани и вариабельностью гликемии. *Терапевтический архив*. 2019; 91 (10): 28–33. DOI: 10.26442/00403660.2019.10.000150
58. Sumithran P., Prendergast L.A., Delbridge E. et al. Long-term persistence of hormonal adaptations to weight loss. *N Engl J Med*. 2011; 27;365(17):1597-604. doi: 10.1056/NEJMoa1105816
59. Schauer P., Bhatt D., Kirwan J. et al. Bariatric surgery versus intensive medical therapy for diabetes - 5-year outcomes. *N Engl J Med*. 2017; 376: 641-51.
60. Gupta D, Ogden SB, Shankar K, et al. "A LEAP 2 conclusions? Targeting the ghrelin system to treat obesity and diabetes". *Mol Metab*. 2021 Apr;46:101128. doi: 10.1016/j.molmet.2020.101128. Epub 2020 Nov 25. PMID: 33246141; PMCID: PMC8085568.
61. Allas S, Caixàs A, Poitou C, et al. AZP-531, an unacylated ghrelin analog, improves food-related behavior in patients with Prader-Willi syndrome: A randomized placebo-controlled trial. *PLoS One*. 2018 Jan 10;13(1):e0190849. doi: 10.1371/journal.pone.0190849. PMID: 29320575; PMCID: PMC5761957
62. Pathak V, Flatt PR, Irwin N. Cholecystokinin (CCK) and related adjunct peptide therapies for the treatment of obesity and type 2 diabetes. *Peptides*. 2018 Feb;100:229-235. doi: 10.1016/j.peptides.2017.09.007. PMID: 29412823.

63. Lafferty RA, Flatt PR, Irwin N. Established and emerging roles peptide YY (PYY) and exploitation in obesity-diabetes. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2021 Apr 1;28(2):253-261. doi: 10.1097/MED.0000000000000612. PMID: 33395088.
64. Pfluger P.T., Kampe J., Castaneda T.R. et al. Effect of human body weight changes on circulating levels of peptide YY and peptide YY3-36. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92: 583–588
65. Meek C.L., Lewis H.B., Reimann F. et al. The effect of bariatric surgery on gastrointestinal and pancreatic peptide hormones. *Peptides.* 2016; 77: 28-37. doi: 10.1016/j.peptides.2015.08.013.
66. Myers MG Jr, Leibel RL, Seeley RJ, Schwartz MW. Obesity and leptin resistance: distinguishing cause from effect. *Trends Endocrinol Metab.* 2010 Nov;21(11):643-51. doi: 10.1016/j.tem.2010.08.002. Epub 2010 Sep 16. PMID: 20846876; PMCID: PMC2967652.
67. de Git KCG, Peterse C, Beerens S, et al. Is leptin resistance the cause or the consequence of diet-induced obesity? *Int J Obes (Lond).* 2018 Aug;42(8):1445-1457. doi: 10.1038/s41366-018-0111-4. Epub 2018 May 22. PMID: 29789721
68. Бородкина Д.А., Груздева О.В., Акбашева О.Е. и др. Лептинорезистентность, нерешенные вопросы диагностики. // Проблемы эндокринологии. — 2018. — Т. 64. — No1. — С. 62—66. doi: 10.14341/probl8740
69. Moon HS, Matarese G, Brennan AM, et al. Efficacy of metreleptin in obese patients with type 2 diabetes: cellular and molecular pathways underlying leptin tolerance. *Diabetes.* 2011 Jun;60(6):1647-56. doi: 10.2337/db10-1791. PMID: 21617185; PMCID: PMC3114380.
70. Mittendorfer B, Horowitz JF, DePaoli AM, et al. Recombinant human leptin treatment does not improve insulin action in obese subjects with type 2 diabetes. *Diabetes.* 2011 May;60(5):1474-7. doi: 10.2337/db10-1302. Epub 2011 Mar 16. PMID: 21411512; PMCID: PMC3292320.
71. Brown RJ, Araujo-Vilar D, Cheung PT, et al. The Diagnosis and Management of Lipodystrophy Syndromes: A Multi-Society Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016 Dec;101(12):4500-4511. doi: 10.1210/jc.2016-2466. Epub 2016 Oct 6. PMID: 27710244; PMCID: PMC5155679.
72. Clément K, van den Akker E, Argente J, et al. Setmelanotide POMC and LEPR Phase 3 Trial Investigators. Efficacy and safety of setmelanotide, an MC4R agonist, in individuals with severe obesity due to LEPR or POMC deficiency: single-arm, open-label, multicentre, phase 3 trials. *Lancet*

- Diabetes Endocrinol. 2020 Dec;8(12):960-970. doi: 10.1016/S2213-8587(20)30364-8. Epub 2020 Oct 30. PMID: 33137293.
73. Окорочков П.Л., Васюкова О.В., Воронцов А.В., и соавт. Уровни адипоцитарного белка-переносчика жирных кислот и адипонектина у подростков с ожирением и их связь с распределением жировой ткани. Проблемы Эндокринологии. 2014;60(2):13-19. <https://doi.org/10.14341/probl201460213-19>
74. Adiyaman SC, Ozer M, Saydam BO, Akinci B. The Role of Adiponectin in Maintaining Metabolic Homeostasis. *Curr Diabetes Rev.* 2020;16(2):95-103. doi: 10.2174/1573399815666190702155733. PMID: 31267874
75. Ahl S, Guenther M, Zhao S, et al. Adiponectin Levels Differentiate Metabolically Healthy vs Unhealthy Among Obese and Nonobese White Individuals. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 Nov;100(11):4172-80. doi: 10.1210/jc.2015-2765. Epub 2015 Sep 24. PMID: 26401592; PMCID: PMC4702448.
76. Frühbeck G, Catalán V, Rodríguez A, et al. Adiponectin-leptin Ratio is a Functional Biomarker of Adipose Tissue Inflammation. *Nutrients.* 2019 Feb 22;11(2):454. doi: 10.3390/nu11020454. PMID: 30813240; PMCID: PMC6412349.
77. Elks CE, den Hoed M, Zhao JH, et al. Variability in the heritability of body mass index: a systematic review and meta-regression. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2012 Feb 28;3:29. doi: 10.3389/fendo.2012.00029. PMID: 22645519; PMCID: PMC3355836.
78. Speakman JR. A nonadaptive scenario explaining the genetic predisposition to obesity: the "predation release" hypothesis. *Cell Metab.* 2007 Jul;6(1):5-12. doi: 10.1016/j.cmet.2007.06.004. PMID: 17618852.
79. Clément K, Mosbah H, Poitou C. Rare genetic forms of obesity: From gene to therapy. *Physiol Behav.* 2020 Dec 1;227:113134. doi: 10.1016/j.physbeh.2020.113134. Epub 2020 Aug 14. PMID: 32805220.
80. Петеркова В.А., Безлепкина О.Б., Васюкова О.В., Окорочков П.Л. и соавт. Клинические рекомендации. Ожирение у детей. 2021
81. Bush WS, Moore JH. Chapter 11: Genome-wide association studies. *PLoS Comput Biol.* 2012;8(12):e1002822. doi: 10.1371/journal.pcbi.1002822. Epub 2012 Dec 27. PMID: 23300413; PMCID: PMC3531285.
82. Khera AV, Chaffin M, Wade KH, et al. Polygenic Prediction of Weight and Obesity Trajectories from Birth to Adulthood. *Cell.* 2019 Apr 18;177(3):587-596.e9. doi: 10.1016/j.cell.2019.03.028. PMID: 31002795; PMCID: PMC6661115.

83. Flannick, J., Mercader, J.M., Fuchsberger, C. et al. Exome sequencing of 20,791 cases of type 2 diabetes and 24,440 controls. *Nature* 570, 71–76 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1231-2>
84. Vujkovic, M., Keaton, J.M., Lynch, J.A. et al. Discovery of 318 new risk loci for type 2 diabetes and related vascular outcomes among 1.4 million participants in a multi-ancestry meta-analysis. *Nat Genet* 52, 680–691 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41588-020-0637-y>
85. Xue A, Wu Y, Zhu Z, et al. Genome-wide association analyses identify 143 risk variants and putative regulatory mechanisms for type 2 diabetes. *Nat Commun*. 2018 Jul 27;9(1):2941. doi: 10.1038/s41467-018-04951-w. PMID: 30054458; PMCID: PMC6063971.
86. Moldovan A, Waldman YY, Brandes N, Linial M. Body Mass Index and Birth Weight Improve Polygenic Risk Score for Type 2 Diabetes. *J Pers Med*. 2021 Jun 21;11(6):582. doi: 10.3390/jpm11060582. PMID: 34205563; PMCID: PMC8233887.
87. Bošković A, Rando OJ. Transgenerational Epigenetic Inheritance. *Annu Rev Genet*. 2018 Nov 23;52:21-41. doi: 10.1146/annurev-genet-120417-031404. Epub 2018 Aug 30. PMID: 30160987.
88. Ling C, Rönn T. Epigenetics in Human Obesity and Type 2 Diabetes. *Cell Metab*. 2019 May 7;29(5):1028-1044. doi: 10.1016/j.cmet.2019.03.009. Epub 2019 Apr 11. PMID: 30982733; PMCID: PMC6509280.
89. Loh M, Zhou L, Ng HK, Chambers JC. Epigenetic disturbances in obesity and diabetes: Epidemiological and functional insights. *Mol Metab*. 2019 Sep;27S(Suppl):S33-S41. doi: 10.1016/j.molmet.2019.06.011. PMID: 31500829; PMCID: PMC6768506.
90. Xu, L., Yeung, M.H.Y., Yau, M.Y.C. et al. Role of Histone Acetylation and Methylation in Obesity. *Curr Pharmacol Rep* 5, 196–203 (2019). <https://doi.org/10.1007/s40495-019-00176-7>
91. Ling C. Epigenetic regulation of insulin action and secretion - role in the pathogenesis of type 2 diabetes. *J Intern Med*. 2020 Aug;288(2):158-167. doi: 10.1111/joim.13049. Epub 2020 May 3. PMID: 32363639.
92. Backe MB, Andersson JL, Bacos K, et al. Lysine demethylase inhibition protects pancreatic β cells from apoptosis and improves β -cell function. *Mol Cell Endocrinol*. 2018 Jan 15;460:47-56. doi: 10.1016/j.mce.2017.07.001. Epub 2017 Jul 4. PMID: 28684291.
93. O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, Peng C. Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018

- Aug 3;9:402. doi: 10.3389/fendo.2018.00402. PMID: 30123182; PMCID: PMC6085463.
94. Manoel Alves J, Handerson Gomes Teles R, do Valle Gomes Gatto C, et al. Mapping Research in the Obesity, Adipose Tissue, and MicroRNA Field: A Bibliometric Analysis. *Cells*. 2019 Dec 6;8(12):1581. doi: 10.3390/cells8121581. PMID: 31817583; PMCID: PMC6952878.
 95. Landrier JF, Derghal A, Mounien L. MicroRNAs in Obesity and Related Metabolic Disorders. *Cells*. 2019 Aug 9;8(8):859. doi: 10.3390/cells8080859. PMID: 31404962; PMCID: PMC6721826.
 96. Gayoso-Diz P., Otero-González A., Rodríguez-Alvarez M.X., et al. Insulin resistance (HOMA-IR) cut-off values and the metabolic syndrome in a general adult population: effect of gender and age: EPIRCE cross-sectional study // *BMC Endocrine Disorders*. - 2013. - Vol. 13. - No 1. - P. 47
 97. DeFronzo R. A., Tobin J. D., Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. // *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. - 1979. - Vol. 237. - No 3. - P. E214– E223.
 98. Майоров А. Ю. Состояние инсулинорезистентности в эволюции сахарного диабета 2 типа / А. Ю. Майоров, Москва:, 2009. 217 с.
 99. Bergman RN, Ader M, Huecking K, Van Citters G. Accurate assessment of beta-cell function: the hyperbolic correction. *Diabetes*. 2002; 51 Suppl 1:S212–220. doi: 10.2337/diabetes.51.2007. s212.
 100. Hinnouho GM, Czernichow S, Dugravot A, et al. Metabolically healthy obesity and risk of mortality: does the definition of metabolic health matter? *Diabetes Care*. 2013 Aug;36(8):2294-300. doi: 10.2337/dc12-1654. Epub 2013 May 1. PMID: 23637352; PMCID: PMC3714476.
 101. Eckel N, Li Y, Kuxhaus O, Stefan N, Hu FB, Schulze MB. Transition from metabolic healthy to unhealthy phenotypes and association with cardiovascular disease risk across BMI categories in 90 257 women (the Nurses' Health Study): 30 year follow-up from a prospective cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2018 Sep;6(9):714-724. doi: 10.1016/S2213-8587(18)30137-2. Epub 2018 May 31. PMID: 29859908.
 102. Caleyachetty R, Thomas GN, Toulis KA, et al. Metabolically Healthy Obese and Incident Cardiovascular Disease Events Among 3.5 Million Men and Women. *J Am Coll Cardiol*. 2017 Sep 19;70(12):1429-1437. doi: 10.1016/j.jacc.2017.07.763. PMID: 28911506.
 103. Chang AR, Surapaneni A, Kirchner HL, et al. Metabolically Healthy Obesity and Risk of Kidney Function Decline. *Obesity (Silver Spring)*. 2018

- Apr;26(4):762-768. doi: 10.1002/oby.22134. Epub 2018 Mar 2. PMID: 29498223; PMCID: PMC5866209.
104. Lin CJ, Chang YC, Cheng TY, et al. The association between metabolically healthy obesity and risk of cancer: A systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *Obes Rev*. 2020 Oct;21(10):e13049. doi: 10.1111/obr.13049. Epub 2020 Jun 1. PMID: 32476278.
105. Zheng R, Zhou D, Zhu Y. The long-term prognosis of cardiovascular disease and all-cause mortality for metabolically healthy obesity: a systematic review and meta-analysis. *J Epidemiol Community Health*. 2016 Oct;70(10):1024-31. doi: 10.1136/jech-2015-206948. Epub 2016 Apr 28. PMID: 27126492.
106. Fauchier G, Bisson A, Bodin A, et al. Metabolically Healthy Obesity and Cardiovascular Events. A Nationwide Cohort Study. *Diabetes Obes Metab*. 2021 Jul 12. doi: 10.1111/dom.14492. Epub ahead of print. PMID: 34251088.
107. Dhana K, Koolhaas CM, van Rossum EF, et al. Metabolically Healthy Obesity and the Risk of Cardiovascular Disease in the Elderly Population. *PLoS One*. 2016 Apr 21;11(4):e0154273. doi: 10.1371/journal.pone.0154273. PMID: 27100779; PMCID: PMC4839559.
108. Hashimoto Y, Tanaka M, Okada H, et al. Metabolically healthy obesity and risk of incident CKD. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015 Apr 7;10(4):578-83. doi: 10.2215/CJN.08980914. Epub 2015 Jan 29. PMID: 25635035; PMCID: PMC4386260.
109. 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>
110. Abdullah A, Stoelwinder J, Shortreed S, et al. The duration of obesity and the risk of type 2 diabetes. *Public Health Nutr*. 2011;14(1):119-126. doi:10.1017/S1368980010001813
111. Mongraw-Chaffin M, Foster MC, Kalyani RR, et al. Obesity severity and duration are associated with incident metabolic syndrome: evidence against metabolically healthy obesity from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(11):4117-4124. doi:10.1210/jc.2016-2460
112. Dankel SJ, Loenneke JP, Loprinzi PD. Health outcomes in relation to physical activity status, overweight/obesity, and history of

- overweight/obesity: a review of the WATCH Paradigm. *Sports Med.* 2017; 47(6): 1029-1034. doi:10.1007/s40279-016-0641-7
113. Bell JA, Kivimaki M, Hamer M. Metabolically healthy obesity and risk of incident type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Obes Rev.* 2014 Jun;15(6):504-15. doi: 10.1111/obr.12157. Epub 2014 Mar 24. PMID: 24661566; PMCID: PMC4309497.
114. Lindström J, Tuomilehto J. The diabetes risk score: a practical tool to predict type 2 diabetes risk. *Diabetes Care.* 2003; 26: 725–31. doi:10.2337/diacare.26.3.725
115. American Diabetes Association. 3. Prevention or Delay of Type 2 Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2021. *Diabetes Care.* 2021 Jan;44(Suppl 1):S34-S39. doi: 10.2337/dc21-S003. PMID: 33298414.
116. Hekimsoy Z, Oktem IK. Duration of obesity is not a risk factor for type 2 diabetes mellitus, arterial hypertension and hyperlipidemia. *Diabetes Obes Metab.* 2003;5(6):432-437. doi:10.1046/j.1463-1326.2003.00298.x.
117. Reis JP, Hankinson AL, Loria CM, et al. Duration of abdominal obesity beginning in young adulthood and incident diabetes through middle age: the CARDIA study. *Diabetes Care.* 2013;36(5):1241-1247. doi:10.2337/dc12-1714
118. Kodama S, Fujihara K, Ishiguro H, et al. Unstable bodyweight and incident type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis. *J Diabetes Investig.* 2017;8(4):501-509. doi:10.1111/jdi.12623
119. Ng CD, Elliott MR, Riosmena F, Cunningham SA. Beyond recent BMI: BMI exposure metrics and their relationship to health. *SSM Popul Health.* 2020;11:100547. doi:10.1016/j.ssmph.2020.100547
120. Kolb H, Martin S. Environmental/lifestyle factors in the pathogenesis and prevention of type 2 diabetes. *BMC Med.* 2017;15(1):131. doi:10.1186/s12916-017-0901-x
121. Magkos F, Hjorth MF, Astrup A. Diet and exercise in the prevention and treatment of type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol.* 2020;10.1038/s41574-020-0381-5. doi:10.1038/s41574-020-0381-5
122. Iacobini C, Pugliese G, Blasetti Fantauzzi C, Federici M, Menini S. Metabolically healthy versus metabolically unhealthy obesity. *Metabolism.* 2019 Mar;92:51-60. doi: 10.1016/j.metabol.2018.11.009. Epub 2018 Nov 17. PMID: 30458177.
123. Kimokoti RW, Judd SE, Shikany JM, Newby PK. Metabolically Healthy Obesity Is Not Associated with Food Intake in White or Black Men. *J Nutr.* 2015 Nov;145(11):2551-61. doi: 10.3945/jn.115.221283. Epub 2015 Sep 30. PMID: 26423733; PMCID: PMC4620728.

124. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth edition. Arlington, American Psychiatric Association, 2013
125. Nieto-Martínez R, González-Rivas JP, Medina-Inojosa JR, Florez H. Are Eating Disorders Risk Factors for Type 2 Diabetes? A Systematic Review and Meta-analysis. *Curr Diab Rep.* 2017 Nov 22;17(12):138. doi: 10.1007/s11892-017-0949-1. PMID: 29168047.
126. Рукавишников Г.В., Вербицкая Е.В., Бобровский А.В., Кибитов А.О., Мазо Г.Э. Нарушения пищевого поведения, избыточная масса тела и ожирение среди 27 700 респондентов, заинтересованных в коррекции массы тела. *Профилактическая медицина.* 2020; 23(2): 59-65. <https://doi.org/10.17116/profmed20202302159>
127. The NS, Richardson AS, Gordon-Larsen P. Timing and duration of obesity in relation to diabetes: findings from an ethnically diverse, nationally representative sample. *Diabetes Care.* 2013;36(4):865-872. doi:10.2337/dc12-0536.
128. Tanamas SK, Wong E, Backholer K, et al. Age of onset of obesity and risk of type 2 diabetes. *Aust N Z J Public Health.* 2016;40(6):579-581. doi:10.1111/1753-6405.12593
129. Luo J, Hodge A, Hendryx M, Byles JE. Age of obesity onset, cumulative obesity exposure over early adulthood and risk of type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2020;63(3):519-527. doi:10.1007/s00125-019-05058-7
130. Ozawa H, Fukui K, Komukai S, et al Clinical Significance of the Maximum Body Mass Index Before Onset of Type 2 Diabetes for Predicting Beta-Cell Function. *J Endocr Soc.* 2020 Mar 13;4(4):bvz023. doi: 10.1210/jendso/bvz023. PMID: 32190805; PMCID: PMC7069807
131. Волеводз Н.Н., Богова Е.А., Немцова М.В и соавт. Особенности ожирения и метаболических нарушений при синдроме Прадера—Вилли у детей. *Проблемы эндокринологии.* 2014; 1: 24-31
132. Styne DM, Arslanian SA, Connor EL, et al. Pediatric obesity—assessment, treatment, and prevention: an endocrine society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2017; 102 (3): 709–757 <https://doi.org/10.1210/jc.2016-2573>
133. Gómez-Ambrosi J, Catalán V, Rodríguez A, et al. Increased cardiometabolic risk factors and inflammation in adipose tissue in obese subjects classified as metabolically healthy. *Diabetes Care.* 2014 Oct;37(10):2813-21. doi: 10.2337/dc14-0937. Epub 2014 Jul 10. Erratum in: *Diabetes Care.* 2014 Nov;37(11):3132. PMID: 25011950.
134. Dedov I, Shestakova M, Benedetti MM, Simon D, Pakhomov I, Galstyan G. Prevalence of type 2 diabetes mellitus (T2DM) in the adult Russian

- population (NATION study). *Diabetes Res Clin Pract.* 2016 May;115:90-5. doi: 10.1016/j.diabres.2016.02.010. Epub 2016 Mar 2. PMID: 27107818.
135. Шестакова Е. А., Ильин А. В., Шестакова М. В., Дедов И. И. Секрция гормонов инкретинового ряда у лиц с факторами риска развития сахарного диабета 2-го типа. *Терапевтический архив.* 2014;86(10):10-14.
136. 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
137. Lee CMY, Woodward M, Pandeya N, et al.. Obesity, Diabetes and Cardiovascular Disease Collaboration. Comparison of relationships between four common anthropometric measures and incident diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2017 Oct;132:36-44. doi: 10.1016/j.diabres.2017.07.022. Epub 2017 Jul 22. PMID: 28783531; PMCID: PMC5728360.
138. Goossens GH. The Metabolic Phenotype in Obesity: Fat Mass, Body Fat Distribution, and Adipose Tissue Function. *Obes Facts.* 2017;10(3):207-215. doi:10.1159/000471488
139. de Mutsert R, Gast K, Widya R, et al. Associations of Abdominal Subcutaneous and Visceral Fat with Insulin Resistance and Secretion Differ Between Men and Women: The Netherlands Epidemiology of Obesity Study. *Metab Syndr Relat Disord.* 2018;16(1):54-63. doi: 10.1089/met.2017.0128
140. Bays H. Central obesity as a clinical marker of adiposopathy; increased visceral adiposity as a surrogate marker for global fat dysfunction. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2014;21(5):345-51. doi: 10.1097/MED.0000000000000093
141. Титов В.Н., Ширинский В.П. Резистентность к инсулину – конфликт между биологическими настройками энергетического метаболизма и образом жизни человека (взгляд на проблему с эволюционных позиций). *Сахарный диабет.* 2016;19(4):286-94. doi: 10.14341/DM7959
142. Fang H, Berg E, Cheng X, Shen W. How to best assess abdominal obesity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2018;21(5):360-5. doi: 10.1097/MCO.0000000000000485
143. Маркова Т.Н., Кичигин В.А., Диомидова В.Н. и др. Оценка объема жировой ткани антропометрическими и лучевыми методами и его связь с компонентами метаболического синдрома. *Ожирение и метаболизм.* 2013;2:23-7.
144. Pieńkowska J, Brzeska B, Kaszubowski M, et al. The correlation between the MRI-evaluated ectopic fat accumulation and the incidence of diabetes mellitus and hypertension depends on body mass index and waist

- circumference ratio. PLoS One. 2020;15(1):e0226889. doi: 10.1371/journal.pone.0226889
145. Thondam SK, Cuthbertson DJ, Wilding JPH. The influence of Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide (GIP) on human adipose tissue and fat metabolism: Implications for obesity, type 2 diabetes and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *Peptides*. 2020;125:170208. doi: 10.1016/j.peptides.2019.170208
146. Færch K, Torekov SS, Vistisen D, et al. GLP-1 Response to Oral Glucose Is Reduced in Prediabetes, Screen-Detected Type 2 Diabetes, and Obesity and Influenced by Sex: The ADDITION-PRO Study. *Diabetes*. 2015;64(7):2513-25. doi: 10.2337/db14-1751
147. European Association for the Study of the Liver (EASL); European Association for the Study of Diabetes (EASD); European Association for the Study of Obesity (EASO). EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *Diabetologia*. 2016;59(6):1121-40. doi: 10.1007/s00125-016-3902-y
148. Рюаткина Л.А., Рюаткин Д.С., Исхакова И.С. Возможности и варианты суррогатной оценки инсулинорезистентности. *Ожирение и метаболизм*. 2019;16(1):27-32. doi: 10.14341/omet10082
149. Lindgren O, Pacini G, Tura A, Holst JJ, Deacon CF, Ahrén B. Incretin effect after oral amino acid ingestion in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015 Mar;100(3):1172-6. doi: 10.1210/jc.2014-3865. Epub 2014 Dec 9. PMID: 25490278.
150. Шестакова Е.А., Скляник И.А., Паневина А.С., Шестакова М.В. 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. doi: 10.15690/vramn1027
151. LeBlanc S, Coulombe F, Bertrand OF, et al. Hypertriglyceridemic Waist: A Simple Marker of High-Risk Atherosclerosis Features Associated With Excess Visceral Adiposity/Ectopic Fat. *J Am Heart Assoc*. 2018 Apr 13;7(8):e008139. doi: 10.1161/JAHA.117.008139. PMID: 29654193; PMCID: PMC6015425.
152. Huang CY, Huang HL, Yang KC, et al. Serum Triglyceride Levels Independently Contribute to the Estimation of Visceral Fat Amount Among Nondiabetic Obese Adults. *Medicine (Baltimore)*. 2015 Jun;94(23):e965. doi: 10.1097/MD.0000000000000965. PMID: 26061332; PMCID: PMC4616460.

153. Майоров А.Ю., Урбанова К.А., Галстян Г.Р. Методы количественной оценки инсулинорезистентности. Ожирение и метаболизм. 2009; 6(2): 19-23.<https://doi.org/10.14341/2071-8713-5313>
154. Nauck MA, Meier JJ. Incretin hormones: Their role in health and disease. *Diabetes Obes Metab*. 2018 Feb;20 Suppl 1:5-21. doi: 10.1111/dom.13129. PMID: 29364588
155. Færch K, Vistisen D, Pacini G, et al. Insulin Resistance Is Accompanied by Increased Fasting Glucagon and Delayed Glucagon Suppression in Individuals With Normal and Impaired Glucose Regulation. *Diabetes*. 2016 Nov;65(11):3473-3481. doi: 10.2337/db16-0240. Epub 2016 Aug 8. PMID: 27504013.
156. Hædersdal S, Lund A, Knop FK, Vilsbøll T. The Role of Glucagon in the Pathophysiology and Treatment of Type 2 Diabetes. *Mayo Clin Proc*. 2018 Feb;93(2):217-239. doi: 10.1016/j.mayocp.2017.12.003. Epub 2018 Jan 5. PMID: 29307553.
157. Stahel P, Lee SJ, Sud SK, et al. Intranasal glucagon acutely increases energy expenditure without inducing hyperglycaemia in overweight/obese adults. *Diabetes Obes Metab*. 2019 Jun;21(6):1357-1364. doi: 10.1111/dom.13661. Epub 2019 Mar 4. PMID: 30740846
158. Morita Y, Ohno H, Kobuke K, et al. Variation in plasma glucagon levels according to obesity status in Japanese Americans with normal glucose tolerance. *Endocr J*. 2021 Jan 28;68(1):95-102. doi: 10.1507/endocrj.EJ20-0366. Epub 2020 Sep 10. PMID: 32908087
159. Samms RJ, Coghlan MP, Sloop KW. How May GIP Enhance the Therapeutic Efficacy of GLP-1? *Trends Endocrinol Metab*. 2020 Jun;31(6):410-421. doi: 10.1016/j.tem.2020.02.006. Epub 2020 Mar 16. PMID: 32396843.
160. Irwin N, Gault VA, O'Harte FPM, Flatt PR. Blockade of gastric inhibitory polypeptide (GIP) action as a novel means of countering insulin resistance in the treatment of obesity-diabetes. *Peptides*. 2020 Mar;125:170203. doi: 10.1016/j.peptides.2019.170203. Epub 2019 Nov 13. PMID: 31733230.
161. Killion EA, Lu SC, Fort M, et al. Glucose-Dependent Insulinotropic Polypeptide Receptor Therapies for the Treatment of Obesity, Do Agonists = Antagonists? *Endocr Rev*. 2020 Jan 1;41(1):bnz002. doi: 10.1210/endrev/bnz002. PMID: 31511854.
162. Raffort J, Lareyre F, Massalou D, et al. Insights on glicentin, a promising peptide of the proglucagon family. *Biochem Med (Zagreb)*. 2017 Jun 15;27(2):308-324. doi: 10.11613/BM.2017.034. PMID: 28736498; PMCID: PMC5508206.

163. Holst JJ, Albrechtsen NJW, Gabe MBN, Rosenkilde MM. Oxyntomodulin: Actions and role in diabetes. *Peptides*. 2018 Feb;100:48-53. doi: 10.1016/j.peptides.2017.09.018. PMID: 29412831
164. 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
165. Casimiro I, Sam S, Brady MJ. Endocrine implications of bariatric surgery: a review on the intersection between incretins, bone, and sex hormones. *Physiol Rep*. 2019 May;7(10):e14111. doi: 10.14814/phy2.14111. PMID: 31134746; PMCID: PMC6536581.
166. Дедов И. И., Мельниченко Г. А., Трошина Е. А., Ершова Е. В., Мазурина Н. В., Огнева Н. А., Яшков Ю. И., Ильин А. В. Продукция инкретинов и обмен глюкозы у больных патологическим ожирением в раннем и отдаленном периоде после билиопанкреатического шунтирования. *Терапевтический архив*. 2016;88(10):9-18. <https://doi.org/10.17116/terarkh201688109-18>
167. Purnell JQ, Johnson GS, Wahed AS, et al. Prospective evaluation of insulin and incretin dynamics in obese adults with and without diabetes for 2 years after Roux-en-Y gastric bypass. *Diabetologia*. 2018 May;61(5):1142-1154. doi: 10.1007/s00125-018-4553-y. Epub 2018 Feb 10. PMID: 29428999; PMCID: PMC6634312.
168. Wichterman KA, Chaudry IH, Baue AE. Studies of peripheral glucose uptake during sepsis. *Arch Surg*. 1979 Jun;114(6):740-5. doi: 10.1001/archsurg.1979.01370300094020. PMID: 454160.
169. Phillips CM, Perry IJ. Does inflammation determine metabolic health status in obese and nonobese adults? *J Clin Endocrinol Metab*. 2013 Oct;98(10):E1610-9. doi: 10.1210/jc.2013-2038. Epub 2013 Aug 26. PMID: 23979951.
170. Ramos-Arellano LE, Matia-Garcia I, Marino-Ortega LA, et al. Obesity, dyslipidemia, and high blood pressure are associated with cardiovascular risk, determined using high-sensitivity C-reactive protein concentration, in young adults. *J Int Med Res*. 2020 Dec;48(12):300060520980596. doi: 10.1177/0300060520980596. PMID: 33342336; PMCID: PMC7756045.
171. Романцова Т.И., Сыч Ю.П. Иммунометаболизм и метавоспаление при ожирении // *Ожирение и метаболизм*. – 2019. – Т. 16. – No4. – С. 3–17. doi: <https://doi.org/10.14341/omet12218>

172. Stolarczyk E. Adipose tissue inflammation in obesity: a metabolic or immune response? *Curr Opin Pharmacol*. 2017 Dec;37:35-40. doi: 10.1016/j.coph.2017.08.006. Epub 2017 Aug 24. PMID: 28843953.
173. Hedbacker K, Lu YH, Dallner O, et al. Limitation of adipose tissue by the number of embryonic progenitor cells. *Elife*. 2020 May 26;9:e53074. doi: 10.7554/eLife.53074. PMID: 32452759; PMCID: PMC7253174.
174. Brovkina O, Nikitin A, Khodyrev D, 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
175. Lukamowicz-Rajska M, Mittmann C, Prummer M, et al. MiR-99b-5p expression and response to tyrosine kinase inhibitor treatment in clear cell renal cell carcinoma patients. *Oncotarget*. 2016; 7:78433–47. doi: 10.18632/oncotarget.12618
176. Shu J, Silva BVR, Gao T, Xu Z, Cui J. Dynamic and modularized microRNA regulation and its implication in human cancers. *Sci Rep*. 2017; 7:13356. doi: 10.1038/s41598-017-13470-5
177. Wang W, Wang Y, Liu W, van Wijnen AJ. Regulation and biological roles of the multifaceted miRNA-23b (MIR23B). *Gene*. 2018 Feb 5; 642: 103-109. doi: 10.1016/j.gene.2017.10.085. Epub 2017 Oct 31. PMID: 29101066.
178. Jaoude J, Koh Y. Matrix metalloproteinases in exercise and obesity. *Vasc Health Risk Manag*. 2016; 12:287–95. doi: 10.2147/VHRM.S103877
179. Berg G, Barchuk M, Miksztowicz V. Behavior of metalloproteinases in adipose tissue, liver and arterial wall: an update of extracellular matrix remodeling. *Cells*. 2019; 8:E158. doi: 10.3390/cells8020158
180. Lewandowski KC, Banach E, Bienkiewicz M, Lewinski A. Matrix metalloproteinases in type 2 diabetes and non-diabetic controls: effects of short-term and chronic hyperglycaemia. *Arch Med Sci AMS*. 2011; 7:294–303. doi: 10.5114/aoms.2011.22081
181. Liu Y, Aron-Wisnewsky J, Marcelin G, et al. Accumulation and changes in composition of collagens in subcutaneous adipose tissue after bariatric surgery. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016; 101:293– 304. doi: 10.1210/jc.2015-3348
182. Wu M, Chen G, Li Y-P. TGF- β and BMP signaling in osteoblast, skeletal development, and bone formation, homeostasis and disease. *Bone Res*. 2016; 4:16009. doi: 10.1038/boneres.2016.9
183. Kosmala W, Plaksej R, Przewlocka-Kosmala M, et al. Matrix metalloproteinases 2 and 9 and their tissue inhibitors 1 and 2 in premenopausal

- obese women: relationship to cardiac function. *Int J Obes*. 2008; 32:763–71. doi: 10.1038/sj.ijo.0803794
184. The Human Protein Atlas. Available online at: <https://www.proteinatlas.org/> (accessed August 27, 2019)
185. Li Q, Zhao H, Xia S, et al. RUNX2 promotes epithelial differentiation of ADSCs and burn wound healing via targeting E-cadherin. *Oncotarget*. 2018; 9:2646–59. doi: 10.18632/oncotarget.23522
186. Xie Q, Wei W, Ruan J, et al. Effects of miR-146a on the osteogenesis of adipose-derived mesenchymal stem cells and bone regeneration. *Sci Rep*. 2017; 7:42840. doi: 10.1038/srep 42840
187. Bruderer M, Richards RG, Alini M, Stoddart MJ. Role and regulation of RUNX2 in osteogenesis. *Eur Cell Mater*. 2014; 28:269–86. doi: 10.22203/eCM.v028a19
188. Xu J, Li Z, Hou Y, Fang W. Potential mechanisms underlying the Runx2 induced osteogenesis of bone marrow mesenchymal stem cells. *Am J Transl Res*. 2015; 7:2527–35.
189. Yan J, Li J, Hu J, et al. Smad4 deficiency impairs chondrocyte hypertrophy via the Runx2 transcription factor in mouse skeletal development. *J Biol Chem*. 2018; 293:9162–75. doi: 10.1074/jbc.RA118.001825
190. Spencer M, Yao-Borengasser A, Unal R, et al. Adipose tissue macrophages in insulin-resistant subjects are associated with collagen VI and fibrosis and demonstrate alternative activation. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2010; 299:E1016–27. doi: 10.1152/ajpendo.0032 9.2010
191. Luong Q, Huang J, Lee KY. Deciphering white adipose tissue heterogeneity. *Biology*. 2019; 8:E23. doi: 10.3390/biology8020023
192. Stafeev I, Podkuychenko N, Michurina S, 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.
193. Keenan KP, Hoe CM, Mixson L, et al. Diabesity: a polygenic model of dietary-induced obesity from ad libitum overfeeding of Sprague-Dawley rats and its modulation by moderate and marked dietary restriction. *Toxicol Pathol*. 2005;33(6):650-74. doi: 10.1080/01926230500311222. PMID: 16207639.
194. 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>
195. Antunes LC, Elkfury JL, Jornada MN, et al. Validation of HOMA-IR in a model of insulin-resistance induced by a high-fat diet in Wistar rats. *Arch Endocrinol Metab.* 2016 Apr;60(2):138-42. doi: 10.1590/2359-3997000000169. PMID: 27191048
196. Shulman GI. Ectopic fat in insulin resistance, dyslipidemia, and cardiometabolic disease. *N Engl J Med.* 2014 Sep 18;371(12):1131-41. doi: 10.1056/NEJMra1011035. Erratum in: *N Engl J Med.* 2014 Dec 4;371(23):2241. PMID: 25229917
197. Блинова Н.В., Азимова М.О., Жернакова Ю.В. и соавт. Эпикардальная жировая ткань как маркер висцерального ожирения и ее связь с метаболическими параметрами и ремоделированием левых отделов сердца у лиц молодого возраста с абдоминальным ожирением. *Терапевтический архив.* 2019; 91 (9): 68–76. DOI: 10.26442/00403660.2019.09.000334
198. Okamura T, Hashimoto Y, Hamaguchi M, et al. Ectopic fat obesity presents the greatest risk for incident type 2 diabetes: a population-based longitudinal study. *Int J Obes (Lond).* 2019 Jan;43(1):139-148. doi: 10.1038/s41366-018-0076-3. Epub 2018 May 1. PMID: 29717276.