

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

На правах рукописи

ЛОГВИНОВА ОКСАНА ВИКТОРОВНА

**ЭНДОГЕННЫЕ ПЕПТИДНЫЕ БИОРЕГУЛЯТОРЫ ПИЩЕВОГО
ПОВЕДЕНИЯ ПРИ ЭКЗОГЕННО-КОНСТИТУЦИОНАЛЬНОМ
ОЖИРЕНИИ**

14.01.02 – Эндокринология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук,

профессор, член-корреспондент РАН

Трошина Екатерина Анатольевна

МОСКВА

2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	9
1.1. Эндогенные пептидные биорегуляторы пищевого поведения у пациентов с экзогенно-конституциональным ожирением.....	9
1.1.1. Особенности секреции лептина – ключевого адипокина в регуляции аппетита.....	9
1.1.2. Особенности секреции грелина.....	12
1.1.3. Особенности секреции обестатина.....	15
1.1.4. Особенности секреции глюкагоноподобного пептида-1.....	18
1.2. Медикаментозная терапия первичного ожирения с использованием агониста рецепторов ГПП-1 лираглутида и возможные предикторы ее эффективности.....	22
Заключение по обзору литературы.....	30
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	31
2.1. Пациенты, включенные в исследование.....	31
2.2. Дизайн исследования.....	33
2.3. Методы исследования.....	37
2.3.1. Клиническое обследование.....	37
2.3.2. Лабораторные методы обследования.....	38
2.3.3. Специальные методы обследования.....	41
2.4. Статистический анализ результатов исследования.....	41
2.5. Этическая экспертиза.....	42
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	43
3.1. Клиническая характеристика обследованных лиц и сравнение групп.....	43
3.2. Уровни эндогенных пептидных биорегуляторов пищевого поведения (лептина, грелина, обестатина, глюкагоноподобного	

пептида-1) у пациентов с экзогенно-конституциональным ожирением и здоровых лиц.....	47
3.3. Анализ пищевого поведения с использованием голландского опросника the Dutch Eating Behavior Questionnaire.....	49
3.4. Проспективное исследование: динамика уровней эндогенных пептидных биорегуляторов, выраженности нарушений пищевого поведения и метаболических показателей у пациентов с ожирением на фоне лечения.....	51
3.5. Поиск возможных предикторов клинически значимого снижения массы тела при комплексной терапии экзогенно-конституционального ожирения.....	63
3.6. Клинические случаи.....	68
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	73
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	78
ВЫВОДЫ.....	80
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	81
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	82
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	84

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

За последние 30 лет распространенность ожирения на территории Европы возросла втрое, при этом в большинстве европейских стран доля пациентов с ожирением составляет более 20% [133, 66, 43]. Подавляющее большинство новых случаев в структуре заболеваемости – это случаи экзогенно-конституционального (первичного, алиментарного) ожирения - хронического заболевания, гетерогенного по своей этиологии и клиническим проявлениям, прогрессирующего при естественном течении и характеризующегося избыточным отложением жировой массы в организме, развивающимся вследствие энергетического дисбаланса между поступлением и расходом энергии в сочетании с определенной генетической предрасположенностью [4].

Экзогенно-конституциональное ожирение сложно классифицировать как истинную эндокринопатию, оно не имеет специфического гормонального маркера, оценка которого требовалась бы для установления диагноза. Исследование уровня некоторых гормонов у пациентов с ожирением должно проводиться с учетом жалоб, анамнеза и клинических проявлений с целью дифференциальной диагностики со вторичными формами, а также в связи с более высокой частой встречаемости ряда эндокринных заболеваний как сопутствующей патологии в данной популяции [8, 97].

В то же время, энергетический обмен, пищевое поведение (ПП) и, в конечном счете, масса тела регулируются большим количеством центральных и периферических модуляторов, основными представителями которых являются нейромедиаторы и гормоны ядер гипоталамуса, выделяемые жировой тканью адипокины, гормоны и пептиды, синтезируемые в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), в том числе инкретины. Особенности секреции и роль данных модуляторов продолжают изучаться в рамках научных работ, в рутинной же практике исследование уровней большинства из этих гормонов не проводится, не

установлена рациональность («за» и «против») их определения для выбора тактики лечения и/или дополнительных критериев его эффективности в динамике с точки зрения косвенной оценки регуляции ПП [68].

Вопрос поиска эффективных методов лечения ожирения продолжает оставаться открытым. Последним из зарегистрированных для лечения экзогенно-конституционального ожирения препаратов на территории Российской Федерации является агонист рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1) лираглутид в суточной дозе 3,0 мг. Данный препарат имеет доказанную эффективность и безопасность и представляется перспективным подходом к коррекции пищевого поведения при ожирении, в том числе в сочетании с коморбидными состояниями [108]. Известно, что предиктором снижения исходного веса на 10% и более к 56 неделе терапии является его снижение на 5% и более через 16 недель применения лираглутида [25]. Также имеются данные, что около одной трети пациентов не достигают клинически значимого снижения массы тела, в связи с чем производится отмена препарата [108]. Предикторы «раннего ответа» через 16 недель лечения на текущий момент не установлены. Таким образом, часть пациентов в течение не менее чем 16 недель получают терапию, которая впоследствии все же будет отменена в связи с отсутствием клинически значимого вес-снижающего эффекта. Учитывая высокую стоимость лечения лираглутидом, с одной стороны, и необходимость минимизации развития побочных реакций (в том числе без достижения целевого снижения веса), с другой, возникает необходимость поиска предикторов эффективности терапии лираглутидом к 16 неделе лечения, что позволит усовершенствовать и персонализировать алгоритмы медикаментозного лечения ожирения.

Цель исследования

Изучить влияние различных методов снижения массы тела на динамику уровней эндогенных пептидных биорегуляторов и их значение в прогнозировании эффективности комплексной терапии экзогенно-конституционального ожирения

Задачи исследования:

1. Оценить уровни эндогенных пептидных биорегуляторов и характеристики пищевого поведения у пациентов с ожирением и здоровых лиц.
2. Исследовать и сравнить динамику уровней лептина, грелина, обестатина и ГПП-1 у пациентов с ожирением на фоне базовой и комплексной терапии заболевания.
3. Изучить и сопоставить динамику выраженности нарушений пищевого поведения у пациентов с ожирением на фоне базовой и комплексной терапии.
4. Выявить возможные предикторы и разработать способ прогнозирования эффективности комплексной терапии экзогенно-конституционального ожирения с использованием лираглутида.

Научная новизна

Впервые в РФ исследованы возможные предикторы клинически значимого снижения массы тела (в том числе уровни эндогенных пептидных биорегуляторов и характеристики пищевого поведения) в рамках комплексного лечения, включающего лираглутид, у пациентов с экзогенно-конституциональным ожирением без сахарного диабета 2 типа.

Впервые разработана математическая модель для прогнозирования вероятности эффективности комплексной терапии ожирения с использованием агониста рецепторов глюкагоноподобного пептида-1, реализованная в виде калькулятора в MS Excel доступного онлайн.

В данной научно-исследовательской работе впервые в РФ была определена отрезная точка для уровня обестатина плазмы, позволяющая интерпретировать показатели пациентов с ожирением и нормальным ИМТ.

Практическая значимость

Разработан онлайн-калькулятор, позволяющий рассчитать и оценить вероятность эффективности комплексной терапии ожирения с использованием

агониста рецепторов ГПП-1 лираглутида, и, следовательно, персонализировать алгоритмы лечения данного заболевания.

Подтверждена эффективность комбинированной терапии ожирения с использованием агониста рецепторов ГПП-1 лираглутида в реальной клинической практике независимо от исходно выявляемых характеристик пищевого поведения пациента с экзогенно-конституциональным ожирением.

Личное участие автора в получении научных результатов

Автор работы лично производил набор участников в исследуемые группы, сбор анамнеза, осмотр пациентов, осуществлял их ведение, обучение принципам рационального питания и физической активности, производил работу с биологическим материалом в клинко-диагностической лаборатории. Автор выполнил обзор литературы по теме, собрал и систематизировал данные пациентов, произвел самостоятельно большую часть статистического анализа данных.

Основные положения, выносимые на защиту

1. У пациентов с экзогенно-конституциональным ожирением и здоровых лиц различается базальная секреция лептина, грелина и обестатина и отсутствуют различия в базальной секреции глюкагоноподобного пептида-1.
2. Большинство пациентов с ожирением имеют нарушения пищевого поведения, наиболее выраженным из которых является эмоциогенный тип.
3. Комплексная терапия экзогенно-конституционального ожирения, включающая агонист рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 лираглутид, способствует снижению уровня лептина, при этом не оказывая существенного влияния на базальные уровни грелина, обестатина и глюкагоноподобного пептида-1.
4. Предложенная математическая модель, реализованная в виде онлайн-калькулятора и включающая исходную массу тела и уровень активного грелина плазмы пациента, прогнозирует вероятность эффективности комплексной терапии ожирения с использованием агониста рецепторов глюкагоноподобного

пептида-1 лираглутида с прогностической ценностью положительного результата 80% [60%; 95%] и чувствительностью 86% [65%; 97%].

Апробация результатов работы

Официальная апробация диссертационной работы проведена на межкафедральном заседании сотрудников кафедр эндокринологии, диабетологии и диетологии, детской эндокринологии-диабетологии Института высшего и дополнительного профессионального образования и научных сотрудников клинических и лабораторных подразделений ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России 8 ноября 2019 года.

Основные результаты работы представлены на 24-м и 26-м Европейских конгрессах по ожирению в г. Порту (Португалия) в 2017 году и в г. Глазго (Великобритания) в 2019 году, на конференции Европейского общества молодых эндокринологов в г. Порту в 2017 году и на VIII Всероссийском диабетологическом конгрессе с международным участием: «Сахарный диабет – пандемия XXI века» в г. Москва (Россия) в 2018 году.

По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ, из них 4 входят в перечень отечественных рецензируемых журналов, рекомендуемых для публикации основных результатов диссертаций.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 98 страницах, иллюстрирована 9 рисунками и 21 таблицей, состоит из введения, 4 основных глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы, включающего 12 отечественных и 129 зарубежных источников.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Эндогенные пептидные биорегуляторы пищевого поведения у пациентов с экзогенно-конституциональным ожирением

1.1.1. Особенности секреции лептина – ключевого адипокина в регуляции аппетита

Исторически жировая ткань считалась пассивным резервуаром для хранения питательных веществ, однако эта точка зрения поменялась в 1994 году, когда J. Friedman и D. Coleman открыли лептин – гормон пептидного происхождения, преимущественно секретируемый белой жировой тканью [139]. Его, наряду с адипонектином, висфатином, резистином, оментинном и др., относят к группе адипокинов – цитокинов, продуцируемых адипоцитами.

Лептин является продуктом гена *LEP (ob)*, локализованного на 7 хромосоме, состоит из 167 аминокислот и имеет молекулярную массу 16 кДа. Количество лептина коррелирует с количеством жировой массы в организме человека, кроме того секрецию определяет размер адипоцита: крупные клетки секретирует больше гормона, чем мелкие. У человека концентрация лептина в крови повышается через несколько дней после периода переедания, однако гормон также отражает текущие резкие изменения в потреблении калорий. В свою очередь ограничение калорийности рациона приводит к довольно быстрому снижению уровня лептина, когда еще не произошло значимого изменения в количестве жировой массы, что свидетельствует о его всестороннем участии в энергетическом балансе и метаболизме [27, 132].

Лептин имеет циркадные колебания в уровне секреции: пик секреции гормона приходится на ранний период сна с 00:00 до 04:00, что является одной из возможных причин, объясняющих увеличение массы тела у пациентов с ночным графиком работы [109].

Секреция лептина характеризуется половым диморфизмом: у женщин уровень лептина в норме выше, чем у мужчин, синтез лептина стимулируется эстрогенами и ингибируется тестостероном [106]. С возрастом базальный уровень лептина несколько повышается [80].

Экспрессию лептина также модулирует инсулин: уровень лептина повышается после инфузии инсулина, а снижение уровня инсулина во время голодания, вероятно, опосредует снижение лептина [27, 84, 115].

Глюкокортикоиды непосредственно стимулируют синтез лептина в культивируемых адипоцитах, у людей секреция лептина повышается в ответ на хроническое повышение уровня кортизола [33, 100].

Описано 6 изоформ рецептора лептина, все они кодируются одним и тем же геном и представляют собой результат альтернативного сплайсинга, функционально активной является только полноразмерная форма рецептора ObRb, она локализована в аркуатных, паравентрикулярных, в вентро- и дорсомедиальных ядрах, латеральной зоне гипоталамуса. Кроме того, лептиновые рецепторы экспрессированы почти повсеместно в различных органах и тканях, что подчеркивает многообразие функций лептина от иммунных до репродуктивных эффектов [36].

В исследованиях на грызунах было продемонстрировано: в случае положительного энергетического баланса и повышения процента жировой массы в организме, увеличивающийся в ответ на это уровень лептина, связываясь с нейронами, продуцирующими проопиомеланокортин (ПОМК) и кокаин-амфетамин-регулируемый транскрипт (КАРТ), способствует снижению потребления энергии и увеличению ее расхода. Кроме того, он ингибирует деятельность нейронов, продуцирующих нейропептид Y (NPY) и агути-подобный белок (АПБ), что также способствует снижению аппетита. В случае низкого энергетического баланса и снижения количества адипоцитов, уровень лептина снижается: это приводит к обратным процессам в аркуатных ядрах и повышению аппетита [94, 98].

В случае мутации гена лептина происходит сдвиг рамки считывания лептин-кодирующей области и преждевременная остановка синтеза гормона. У пациентов с данной мутацией уровень лептина крови не определяем, в ряде случаев могут определяться его низкие значения. Дефицит лептина приводит к гиперфагии и быстрому увеличению массы тела на первом году жизни [47, 128]. В случае мутации гена рецептора лептина отсутствуют как трансмембранный, так и внутриклеточный его домены. В этой связи, несмотря на повышенный уровень лептина, у детей имеется гиперфагия и ожирение. Данные формы ожирения имеют аутосомно-рецессивный тип наследования и встречаются крайне редко [48].

Экстраполируя данные о моногенном ожирении с дефектом синтеза/функционирования лептина на алиментарное, была выдвинута гипотеза, что при алиментарном ожирении причиной увеличения массы тела, по аналогии, могут являться изменения структуры гена *LEP (ob)*. Однако данная гипотеза не нашла своего подтверждения: при сравнении структуры гена у людей со сниженной и повышенной массой тела, различий выявлено не было. Кроме того, у лиц с ожирением уровень мРНК был значительно выше, чем у худых [34].

Как было сказано ранее, уровень лептина коррелирует с ИМТ и процентом жира в организме [50]. Но увеличение концентрации лептина не приводит в выраженному снижению аппетита, количества потребляемой пищи и повышению расхода энергии у пациентов с алиментарным ожирением, в связи с чем была выдвинута теория лептинорезистентности. На текущий момент нет однозначного ответа, можно ли считать синонимами повышение уровня лептина крови (в том числе выявляемое при нескольких повторных анализах) и термин «лептинорезистентность». Ряд авторов считает, что более информативен расчет индекса свободного лептина: отношение между уровнями лептина и рецептора ObRb, умноженное на 100, однако пока отсутствует утвержденный референсный интервал для данного показателя [21, 136].

К возможным теориям формирования лептинорезистентности относят нарушение транспорта лептина через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ): при концентрации лептина в сыворотке более 25—30 нг/мл, его уровень в нейронах и

спинномозговой жидкости перестает возрастать. У лиц с ожирением наблюдается даже снижение концентрации лептина в спинномозговой жидкости на фоне ее роста в сыворотке крови. В исследовании на мышах было показано снижение прохождения лептина через ГЭБ у таковых с ожирением, что может объяснять, почему у лиц с алиментарным ожирением введение экзогенного лептина не имеет выраженного влияния на потребление пищи и снижение массы тела [19, 20, 32, 105].

Другой возможной причиной считается так называемая лептин-индуцированная лептинорезистентность, которая объясняется снижением экспрессии рецепторов лептина в ответ на повышение его уровня при ожирении и формированием порочного круга в связи с прогрессирующим увеличением массы тела [56].

Также в качестве запускающего механизма лептинорезистентности рассматривается стресс эндоплазматического ретикулума, к развитию которого приводит увеличение экспрессии провоспалительных цитокинов в гипоталамусе на фоне питания с избыточным потреблением жиров [42, 120].

Тем не менее у пациентов с одинаковым ИМТ уровни лептина могут отличаться в десятки раз [92]. В работах, где введение экзогенного лептина исследовалось в качестве терапии экзогенно-конституционального ожирения, одни пациенты отвечали на лечение намного лучше, чем другие, что диктует необходимость дальнейшего изучения факторов, приводящих к нарушениям в функционировании оси «жировая ткань-гипоталамус».

1.1.2. Особенности секреции грелина

Грелин – пептидный гормон, состоящий из 28 аминокислот и синтезируемый преимущественно париетальными клетками желудка, был открыт Kojima и соавторами в 1999 году. Изначально его описывали только как секреторный гормон роста, однако в последствии были выяснены дополнительные свойства, в том числе

его влияние на аппетит и массу тела [15, 83]. Основные эффекты грелина реализуются через 1а-изоформу рецептора секретогогов гормона роста (GHSR).

В плазме крови грелин представлен в двух формах: неактивной дезацилированной формой и активной ацилированной (октаноил-грелин), где гидроксильная группа аминокислоты серина в третьем положении этерифицирована октановой кислотой. Переход из неактивной формы в активную происходит с участием фермента грелин О-ацилтрансферазы (GOAT). Комплексная система грелин-GOAT-GHSR представляет собой один из основных метаболических регуляторов, обеспечивающих поддержание гомеостаза [72]. На ацилированную форму грелина, за счет которой реализуются основные свойства данного гормона в том числе орексигенные эффекты, приходится около 10% от общего количества, в то время как примерно 90% циркулирует в дезацилированной форме [83]. Некоторые исследователи указывают, что и дезацил-грелин является участником метаболического процесса, влияя на чувствительность к инсулину, регенерацию мышечной ткани и оказывая протективное действие относительно β -клеток поджелудочной железы [31, 40, 41].

Секреция грелина повышается непосредственно перед приемом пищи и снижается после, он относится к группе орексигенных гормонов. В то же время в исследовании К. Seyssel и соавторов отмечалось кратковременное повышение ацилированного грелина и постпрандиально. Возможно, изменение уровня гормона модулируется также визуальными и обонятельными стимулами, связанными с едой [116]. Считается, что грелин повышает количество приемов пищи и сокращает интервалы между ними. Экспрессия гена грелина возрастает при отрицательном энергетическом балансе, например, при голодании, а после перекармливания, особенно при диете с высоким содержанием жиров, экспрессия его мРНК снижается [121].

Ряд исследователей считает, что именно неадекватное постпрандиальное подавление грелина может являться одним из наиболее важных звеньев в патогенезе ожирения [141]. Внутривенное введение грелина человеку вызывает увеличение чувства голода и кратковременно увеличивает потребление пищи

[131]. Рецепторы грелина локализованы в тех же гипоталамических структурах, что и рецепторы лептина, в том числе в аркуатном и вентромедиальном ядрах. Являясь антагонистом лептина, грелин повышает активность нейронов, продуцирующих НПУ и АПБ, и снижает таковую у нейронов, продуцирующих ПОМК и КАРТ [88].

В то же время, есть работы, в которых грелин не рассматривается как значимый регулятор энергетического метаболизма: его введение в физиологических и супрафизиологических дозах в исследовании F. Lippl и соавторов не вызывало изменения аппетита и не влияло на количество употребляемой пищи [91].

Учитывая повышение аппетита у пациентов с экзогенно-конституциональным ожирением, можно было бы предположить, что они имеют высокий уровень грелина. Однако гиперпродукцией данного орексигенного пептидного гормона характеризуется лишь вторичный вариант ожирения вследствие синдрома Прадера-Вилли, развивающегося из-за отсутствия отцовской копии участка хромосомы 15q11-13 [38].

Уровень грелина отрицательно коррелирует с ИМТ и процентом жира в организме: пациенты с алиментарным ожирением имеют более низкие его значения в плазме по сравнению со здоровыми добровольцами [122]. Такое снижение грелина, возможно, является механизмом адаптации к длительно имеющемуся положительному энергетическому балансу из-за переедания, с одной стороны, но само по себе не приводит к уменьшению количества потребляемой пищи, с другой [86].

Снижение массы тела с помощью диетотерапии как правило приводит к повышению уровня грелина, что способствует нарастанию чувства голода и может объяснять рикошетный набор веса с отсутствием удержания достигнутых результатов, отмечающийся у пациентов с ожирением, у которых производилась только модификация питания без дополнения впоследствии каким-либо другим способом [71, 107]. В исследовании Hill и соавторов с участием 71 пациентки с ожирением отмечалось статистически значимое повышение грелина ($p < 0,001$) после соблюдения ими гипокалорийной диеты в течение 12 месяцев. Данное

повышение сочеталось с увеличением чувства голода и количества потребляемой пищи [69]. S.M. Ata и соавторы сообщают, что в ходе 10-недельной программы по снижению массы тела, включавшей 60 пациенток с ИМТ от 25 до 37 кг/м², на фоне гипокалорийной сбалансированной диеты (40% углеводов, 30% жиров и 30% белков) среднее снижение массы тела составило 4,5 %, а уровень грелина увеличился на 17% по сравнению с его исходными значениями ($p < 0,01$) [17].

Однако в работе P.S. Morpurgo, несмотря на клинически значимое снижение массы тела, ИМТ и уровня лептина у пациентов с ожирением после 3-недельной комплексной программы, включавшей не только коррекцию питания, но и модификацию физической активности, а также психологическое консультирование с обучением, не было отмечено статистически значимого изменения уровня грелина как натощак, так и постпрандиально, что может быть связано с маленькой выборкой (10 человек) и/или иными факторами [99].

В этой связи, сохраняется необходимость дальнейшего изучения роли грелина в энергетическом обмене, его взаимосвязи с ПП, а также уточнения изменений его продукции у пациентов в ходе снижения массы тела с использованием различных методов.

1.1.3. Особенности секреции обестатина

В 2005 году J.V. Zhang и соавторы идентифицировали обестатин – 23-аминокислотный пептид, имеющий тот же, что и грелин, предшественник, именуемый препрогрелином. Изначально данный гормон позиционировался как полный антагонист грелина, уменьшающий аппетит и ингибирующий секрецию гормона роста [137]. Далее было установлено, что наравне с неацилированным грелином, обестатин имеет антидиабетогенные эффекты, а также положительное влияние на обмен липидов, что отличает таковые от эффектов ацилированной формы. Часть исследователей считает, что обестатин является агонистом рецептора GPR39, однако эти данные были оспорены несколькими независимыми научными группами, опровергнувшими тропность обестатина в отношении

указанного рецептора [111, 135]. Было предположено, что мишенью обестатина могут являться рецепторы ГПП-1 в клетках поджелудочной железы и адипоцитах, кроме того различные типы клеток продемонстрировали наличие специфических сайтов для связывания с обестатином, что указывает на различные биологические свойства пептида, исходя из уровня воздействия [14, 57].

Fujimiya и соавторы выдвинули гипотезу, что обестатин может иметь рецепторы на терминальных афферентных окончаниях блуждающего нерва и за счет этого ингибирует перистальтику ЖКТ, косвенно способствуя снижению массы тела, а нейроны, секретирующие урокортин-2 в гипоталамусе, могут модулировать ингибирующее действия обестатина на перистальтику через CRF1- и CRF2-рецепторы в головном мозге [51].

Интраперитонеальное и интрацеребровентрикулярное введение обестатина в экспериментах на мышах взрослого возраста приводило к дозозависимому снижению потребления пищи, однако эти данные касались амидированной формы обестатина, тогда как при использовании неамидированной формы эффект был менее выражен. Авторы отмечали, что в их исследовании ни введение грелина, ни введение обестатина не модулировало уровень лептина. Обестатин замедлял опорожнение желудка, а в экспериментах *in vitro* нанесение на мышечные волокна тощей кишки обестатина снижало их сократительную способность и противодействовало обратному эффекту грелина. Использование обестатина 3000 нмоль/кг в сутки у крыс приводило к остановке набора массы тела [137]. Эти результаты были подтверждены другими научными группами, в том числе Sibia и соавторами, которые, однако, отметили, что наиболее вероятно, обестатин имеет только краткосрочное влияние на прием пищи, в отличие от других исследователей, приписывавших ему долгосрочные эффекты относительно снижения потребления энергии [30, 58, 117].

Напротив, по данным S. Unniappan и соавторов введение обестатина в объеме 100, 200, 300, 400 и 500 нмоль/кг у крыс не изменяло потребление пищи и массу тела, кроме того инфузия 1000 нмоль/кг в течение 7 дней не влияла на суточное потребление энергии, жидкости и не изменяла вес [123]. R. Nogueiras и соавторы

тоже не смогли воспроизвести на грызунах эффект, выявленный J.V.Zhang, относительно снижения потребления пищи и массы тела [102]. Причина расхождений результатов исследований до конца не ясна: возможно, получению различных данных послужили особенности техники введения грызунам обестатина и лабораторной работы с образцами биологического материала.

Согласно ряду исследований с участием людей, уровень обестатина натощак у лиц с ожирением значительно ниже, чем у лиц с ИМТ в пределах нормальных значений [62, 90, 134]. Напротив, V. Vicennati и соавторы сообщают о более высоком уровне обестатина у женщин с ожирением по сравнению со здоровыми лицами, а С.С. Zou и соавторы не обнаружили разницы в уровне гормона у детей с ожирением и сопоставимой по возрасту контрольной группой [124, 140]. Поэтому Zhang и соавторы выполнили метаанализ исследований, касающихся сравнения уровня обестатина у лиц с ожирением и без него. В девяти работах с суммарным числом участников в 556 человек, уровень обестатина был статистически значимо ниже у лиц с ожирением по сравнению со здоровым контролем ($p < 0,01$) [138].

В рамках дальнейшего изучения секреции и функционирования обестатина, проводилась оценка значений в плазме у пациентов до и после бариатрических операций: Roth и соавторы не выявили различий в его уровне до и через 2 года после лапароскопического шунтирования желудка (RYGB), тогда как в исследовании Martins отмечено статистически значимое повышение обестатина плазмы через 3 года после RYGB по сравнению с контрольной группой [114, 95].

В другом исследовании Martins и соавторов продолжительностью 32 ± 10 месяцев в группе лиц с ожирением, которым рекомендовалась модификация образа жизни, не было выявлено статистически значимых различий в уровне обестатина с группой сравнения, куда входили пациенты с ожирением и стабильным за последнее время весом, еще не получавшие какого-либо лечения. В то же время таковые различия отмечались при сравнении группы без вмешательства с пациентами, которые перенесли RYGB 36 ± 4 месяца назад: уровни обестатина были значимо выше после хирургического лечения ($p = 0,002$). В проспективной части исследования С.С. Zou и соавторов, что упоминалось ранее, в котором исходно не

отмечалось статистически значимых различий в уровне обестатина у детей с ожирением и здоровых лиц ($p=0,083$), в динамике у таковых с ожирением выявлено достоверное повышение значений гормона ($p<0,05$) на фоне снижения массы тела с помощью коррекции образа жизни в рамках летнего детского лагеря [140].

Таким образом, требуются дополнительные исследования, направленные на изучение секреции обестатина у пациентов с ожирением и здоровых лиц в разных возрастных группах, а также уточнение влияния имеющихся методов снижения массы тела на функционирование системы грелин-обестатин.

1.1.4. Особенности секреции глюкагоноподобного пептида-1

В 1983 году G.I. Bell и соавторы открыли ГПП-1. Данный гормон имеет пептидную структуру, а его синтез кодируется геном проглюкагона, который экспрессирован в энтероэндокринных клетках кишечника, α -клетках поджелудочной железы, ядре одиночного пути. Синтез гормона осуществляется L-клетками, плотность распространения которых варьирует от минимального в двенадцатиперстной кишке, до умеренного в тощей и максимальной в подвздошной и толстой кишке [18]. L-клетки своей апикальной поверхностью непосредственно контактируют с пищевыми веществами: прием пищи, особенно богатой углеводами и жирами, является основным стимулятором секреции данного гормона [29]. Именно пероральное, а не внутривенное введение глюкозы, является активатором секреции инкретинов, в том числе ГПП-1 как основного представителя данной группы гормонов. Секреция ГПП-1 происходит двухфазно: первая фаза начинается через несколько минут после приема пищи и длится около 15 минут, вторая – начинается примерно через час после приема пищи и длится около 60 минут [67].

Наиболее вероятно, что первая фаза секреции не может быть обусловлена непосредственным контактом L-клеток с химусом. Роль в стимуляции данной фазы отводится вегетативной нервной системе, блуждающему нерву, ацетилхолину и гастрин-релизинг пептиду [113]. ГПП-1 имеет очень короткий период полураспада

около 2 минут, далее происходит разрушение пептида преимущественно за счет деятельности дипептидилпептидазы-4 (ДПП-4) [129]. Более 50% от общего секретированного количества ГПП-1, попадая в воротную вену, уже инактивировано ДПП-4 [65].

Рецепторы ГПП-1 (ГПП-1R) идентифицированы в α -, β - и δ -клетках островков Лангерганса поджелудочной железы, желудочно-кишечном тракте, блуждающем нерве, центральной нервной системе, жировой ткани, сердце, сосудах, почках, коже. ГПП-1, секретируемый кишечником, имеет способность проникать через гематоэнцефалический барьер, однако пептид также синтезируется непосредственно в головном мозге. Основным источником ГПП-1 в ЦНС являются нейроны ядер одиночного пути, активация которых подавляет прием пищи. ГПП-1R локализованы во всех отделах ЦНС, имеющих отношение к контролю энергетического баланса и массы тела [81].

В исследованиях на животных ГПП-1 напрямую стимулировал ПОМК/КАРТ-нейроны и косвенно через ГАМК-зависимую сигнализацию ингибировал активность нейронов, экспрессирующих нейропептид Y и агути-подобный белок [93]. Экспрессия ГПП-1R снижается в ответ на дексаметазон, повышение уровня глюкозы крови, активацию протеинкиназы C и секрецию ГПП-1. Основное выведение ГПП-1 осуществляется через почки, а концентрация в крови метаболитов ГПП-1 повышается у пациентов с хронической почечной недостаточностью [96].

У здоровых людей уровень активного ГПП-1 в плазме натощак обычно находится в пределах 5 – 10 пмоль/л и в 2-3 раза увеличивается после приема пищи, однако уровень постпрандиальной секреции зависит от состава продуктов и размера порций [104]. Известно, что постпрандиальный уровень ГПП-1 у пациентов с ожирением и/или сахарным диабетом 2 типа (СД 2) снижен по сравнению со здоровыми лицами, что объясняется меньшей секрецией гормона, но не особенностями его экскреции [110, 126, 127].

Интересным является факт, что L-клетки экспрессируют рецепторы лептина, и, хотя лептин стимулирует секрецию ГПП-1, при ожирении в сочетании с

повышенным уровнем лептина, вызываемых экспериментально у мышей с помощью высоко жировой диеты, отмечается снижение как базального уровня ГПП-1, так и такового в ходе перорального глюкозотолерантного теста (ПГТТ) [16]. Секрецию ГПП-1 могут снижать инсулин, соматостатин и галанин.

Помимо глюкозозависимой стимуляции секреции инсулина и глюкозозависимого снижения секреции глюкагона, ГПП-1 является важным регулятором энергетического гомеостаза. Внутривенное введение ГПП-1 в исследовании Gutzwiller и соавторов снижало количество потребляемой участниками пищи, а также чувство голода по данным их субъективной самооценки [61]. В регуляцию гедонистического потребления пищи вовлечены гиппокамп, миндалина, прилежащее ядро, вентро-теgmentальная область, поясная извилина, орбитофронтальная кора, островок и префронтальная кора, которые участвуют в формировании условного ответа и вознаграждения. И хотя классическими нейромедиаторами данной системы являются дофамин, серотонин и гамма-аминомасляная кислота (ГАМК), некоторые исследования также подчеркивают вклад ГПП-1. Hsu и соавторы оценивали ПП крыс, получающих агонист рецепторов ГПП-1 эксендин-4 (эксенатид), вводимый в область вентральной части гиппокампальной формации: снижение количества потребляемой энергии и массы тела сопровождалось значительным уменьшением потребления жира и выбором в пользу обычного корма, когда предлагались разные варианты пищи. Полученные данные подчеркивают вклад ГПП-1 в контроль мотивационного поведения при потреблении пищи [73]. Экспрессия гена препроглюкагона и гипоталамического ГПП-1 снижается после кратковременного и хронического ограничения потребления пищи, и наоборот, повышается в области заднего мозга в ответ на диету с высоким содержанием жиров и/или при ожирении [55, 75, 82]. В то же время блокада ГПП-1R в ЦНС способствует нарастанию потребления пищи и процента жира в организме [22].

Краткосрочное потребление пищи контролируется ГПП-1 за счет паракринных эффектов гормона на ГПП-1R афферентных волокон блуждающего нерва, которые доставляют информацию об объеме и характере нутриентов в

желудке и кишечнике. Сигнал по афферентным волокнам передается в ядро одиночного пути, откуда транслируется в гипоталамус, ответные импульсы которого ингибируют двигательные волокна блуждающего нерва. Таким образом, локальное воздействие ГПП-1 повышает чувство сытости и тормозит всасывание питательных веществ путем замедления опорожнения желудка [7].

В исследовании Т.С. Adam и соавторов уровни ГПП-1 натощак не отличались у лиц с избыточной массой тела и ожирением от лиц из группы здорового контроля, в то время как постпрандиальная секреция ГПП-1 через 30 минут после приема пищи была снижена у пациентов с ожирением ($p=0,02$) [13]. В то же время в работе J. Bowen уровень ГПП-1 как натощак, так и постпрандиально был выше у пациентов с избыточной массой тела и ожирением нежели у лиц с нормальным ИМТ из группы контроля ($p < 0,001$) [27]. Также известно, что у лиц с нарушениями углеводного обмена базальная секреция ГПП-1 ниже, чем у людей сопоставимых по ИМТ без них [12].

В исследовании Т.М. Halliday и соавторов установлено, что у лиц с ожирением на фоне снижения массы тела на 10 кг с использованием диеты, включавшей 40% белков, 40% жиров и 20% углеводов, не отмечалось статистически значимого изменения уровня ГПП-1 натощак, а также площади под кривой, оценивающей уровень инкретина на 30, 60, 90, 120 и 180 минутах после приема стандартного завтрака [64]. Отсутствие значимой динамики базального уровня общего и активного ГПП-1 на фоне снижения массы тела как в результате желудочного шунтирования, так и в группе с эквивалентным уменьшением веса с помощью диетотерапии, наблюдалось и в исследовании В. Laferrere и соавторов [85].

Согласно данным, полученным Р. Sumithran и соавторами, несмотря на среднее снижение массы тела на 14% к 10-й неделе, а затем обратный набор веса в среднем на 8% в период с 10-й по 62 неделю, постпрандиальный уровень ГПП-1 на 62-й неделе все еще оставался ниже исходного (до начала соблюдения диеты), что рассматривалось как возможная причина рикошетного увеличения веса и отсутствия удержания достигнутых результатов [119].

1.2. Медикаментозная терапия первичного ожирения с использованием агониста рецепторов ГПП-1 лираглутида и возможные предикторы ее эффективности

Агонист рецепторов ГПП-1 лираглутид был одобрен для лечения ожирения в дозе 3,0 мг в сутки в 2014 году в США, в 2015 году в странах Евросоюза и в 2016 году на территории Российской Федерации. Стоит отметить, что лираглутид уже использовался с 2009 года на территории Европы и с 2010 года в Америке и России в качестве терапии сахарного диабета 2 типа в суточной дозе 1,2 и 1,8 мг. В дозе 3,0 мг данный препарат входит в алгоритмы лечения всех степеней ожирения согласно российским и зарубежным клиническим рекомендациям [4, 53, 133].

Препарат представляет собой раствор для подкожного введения, реализуемый в предварительно заполненной шприц-ручке. Лираглутид на 97% гомологичен аминокислотной последовательности эндогенного человеческого ГПП-1, поэтому он связывается и активирует его рецепторы. В отличие от эндогенного ГПП-1 период полувыведения лираглутида составляет 13 часов, а время достижения максимальной концентрации - около 11 часов. Таким образом, фармакокинетический профиль лираглутида позволяет вводить его 1 раз в сутки. Официальная инструкция препарата разрешает выполнять инъекцию в любое время суток, отмечая, что предпочтителен один и тот же временной промежуток после определения наиболее оптимального.

Основной анорексигенный эффект лираглутида реализуется за счет центральных механизмов действия эндогенного ГПП-1: исследование Sisley и соавт. демонстрирует, что именно через ГПП-1R в ЦНС, но не в ЖКТ, осуществляется влияние аналогов человеческого ГПП-1 длительного действия на потребление пищи, вкусовую аверсию, аппетит и массу тела [118]. Замедление опорожнения желудка само по себе, а также его связь с возникновением тошноты способствуют дополнительным (периферическим) механизмам снижения массы тела при использовании агонистов ГПП-1R. Однако ряд исследователей отмечают,

что через некоторое время терапии лираглутидом его влияние на скорость опорожнения желудка уменьшается [78, 101].

Важно отметить, что лираглутид относится к подгруппе мелкомолекулярных агонистов ГПП-1Р, что определяет его наилучшее прохождение через гематоэнцефалический барьер и более эффективное снижение массы тела за счет центральных эффектов по сравнению с крупномолекулярными формами (дулаглутид, албиглутид) [76]. Влияя на кортиколимбические структуры, ответственные за гедонистический контроль ПП, препарат снижает восприятие привлекательности высококалорийной пищи и мотивацию к ее употреблению [46].

Эффективность и безопасность лираглутида в дозе 3,0 мг была изучена в серии рандомизированных двойных-слепых, плацебо-контролируемых исследований, входивших в программу SCALE (the Satiety and Clinical Adiposity – Liraglutide Evidence in nondiabetic and diabetic individuals). Продолжительность наблюдения составила 56 недель с включением 3731 пациента, в том числе 160 человек из России, с ИМТ ≥ 30 кг/м² либо с избыточной массой тела при ИМТ ≥ 27 кг/м² в сочетании с дислипидемией и/или артериальной гипертензией. Все участники были рандомизированы в соотношении 2:1 в группы, получавшие в качестве дополнения к рекомендациям по диетотерапии и физическим нагрузкам лираглутид (2487 человек) или плацебо (1244 человека). Через 56 недель среднее изменение массы тела со средним квадратическим отклонением (СКО) в группе лираглутида составило -8,4 ($\pm 7,3$) кг и -8,0 ($\pm 6,7$) % по сравнению -2,8 ($\pm 6,5$) кг и -2,6 ($\pm 5,7$) % в группе плацебо. 63,2% пациентов в группе лираглутида снизили массу тела на 5% и более по сравнению с 27,1% человек в группе плацебо; снижение веса на 10% и более отмечалось, соответственно, у 33,1% и 10,6% больных ($p < 0,001$). Частота ранних нарушений углеводного обмена через 56 недель в группе лираглутида снизилась в два раза с 61,4% до 30,8%, в то время как в группе плацебо количество лиц с предиабетом увеличилось с 60,9% до 67,3% [108].

При пролонгации исследования SCALE до 160 недель среднее изменение массы тела с СКО в группе пациентов, получавших лираглутид, существенно

отличалось от группы плацебо, составляя в среднем $-6,1 (\pm 7,3) \%$ и $-1,9 (\pm 6,3) \%$ от исходных цифр соответственно. Лираглутид был менее эффективен у пациентов с ИМТ ≥ 40 кг/м² по сравнению с таковыми с меньшими значениями ИМТ. Кроме того, у лиц с установленным диагнозом СД 2 снижение массы тела было менее выраженным по сравнению с лицами без него. За исключением указанных факторов, на момент завершения 3-летнего наблюдения за пациентами, получавшими лираглутид, не было ясно, какие именно предикторы на старте (индивидуальные или иные) могли являться причиной недостаточного ответа либо отсутствия ответа на лечение. [89].

Наиболее частыми побочными эффектами лираглутида в SCALE являлись таковые со стороны ЖКТ, в частности – легкая или умеренная тошнота, которая отмечалась на старте терапии и эскалации дозы у 40,2% пациентов и в подавляющем большинстве случаев имела временный характер. Примечательно, что тошнота также отмечалась у 14,7% лиц в группе плацебо [108]. В исследовании М.Е. Lean и соавт. средняя потеря веса за 1 год лечения лираглутидом в дозе 3,0 мг составила 9,2 кг для участников, сообщивших об эпизодах тошноты и/или рвоты, по сравнению с 6,3 кг у тех, у кого их не было (разница в лечении - 2,9 кг (95% ДИ: (0,5-5,3); $p = 0,02$). Среди обеих подгрупп снижение массы тела было более значимым, чем таковое для участников, принимавших плацебо ($p < 0,001$) или орлистат по 120 мг 3 раза в сутки ($p < 0,05$). При этом показатели качества жизни через 20 недель улучшились в обеих подгруппах, получавших лираглутид, независимо от наличия/отсутствия тошноты [87].

В исследованиях на грызунах применение лираглутида могло индуцировать развитие медуллярного рака щитовидной железы (МРЩЖ): ГПП-1Р в достаточном количестве локализованы у них на С-клетках, благодаря чему агонисты ГПП-1Р стимулировали высвобождение кальцитонина, повышали экспрессию его гена и способствовали развитию С-клеточной гиперплазии у крыс и, в меньшей степени, у мышей. У приматов и человека экспрессия ГПП-1Р на С-клетках значительно ниже, в связи с чем, использование у них лираглутида, в целом, не приводит к подобным патологическим изменениям. В исследовании В. Knudsen в исходе 87-

недельной терапии лираглутидом у приматов в дозировках 0,2 и 5,0 мг/кг/сут. значимого повышения уровня кальцитонина не отмечалось [24]. На момент завершения 3-летнего наблюдения за пациентами в программе SCALE не было выявлено статистически значимого повышения медианы кальцитонина сыворотки, случаев С-клеточной гиперплазии или медуллярной карциномы [89]. Но, несмотря на видоспецифические различия в действии лираглутида и отсутствие на текущий момент достоверных данных, что препарат может вызывать МРЦЖ у людей, более долгосрочные последствия устойчивой активации ГПП-1Р в щитовидной железе человека остаются неизвестными и заслуживают дальнейшего изучения. Согласно официальной инструкции лираглутид противопоказан пациентам, имеющим МРЦЖ в личном или семейном анамнезе, а также при синдроме множественной эндокринной неоплазии 2 типа.

Учитывая, что ожирение ассоциировано с более высоким риском панкреатита и холецистита, в том числе калькулезного (при ожирении как таковом, а также в случае выраженного снижения массы тела увеличивается концентрация холестерина в желчи и снижается сократительная функция желчного пузыря, поэтому риск образования камней повышается), больным с этими заболеваниями в анамнезе препарат необходимо назначать с осторожностью. Учитывая отсутствие достаточного количества клинических наблюдений, а также исследований по применению лираглутида 3,0 мг у беременных и кормящих женщин, потенциальный риск использования в данной группе пациентов неизвестен. В этой связи терапия препаратом у данной категории лиц на текущий момент противопоказана. При планировании или наступлении беременности терапию лираглутидом необходимо прекратить [7, 11].

Среди всех применяемых в настоящее время агонистов ГПП-1Р именно лираглутид 3,0 мг показал наилучшие результаты в отношении снижения массы тела [76]. Однако по данным J.S. Knudsen тот пул пациентов, который получает терапию лекарственным средством в реальной клинической практике может значимо отличаться от популяции пациентов, включаемой в рандомизированное клиническое исследование (РКИ): так по данным датского регистра пациентов 45%

лиц, получающих лираглутид в качестве сахароснижающей терапии, фактически не были бы включены в РКИ Liraglutide Effect and Action in Diabetes 1-5 (LEAD) вследствие попадания под критерии исключения [77]. Это диктует необходимость постмаркетинговых исследований относительно эффективности и безопасности препарата в реальной лечебной практике.

Исследование S. Wharton и соавт. включало в себя оценку эффективности лечения лираглутидом в сочетании с коррекцией питания и физической активности в реальной клинической практике с использованием записей в электронных историях болезни сети клиник Wharton Medical Clinic в Канаде. В исследование было включено 311 участников, из которых 210 вошли в группу лечения лираглутидом 3,0 мг продолжительностью ≥ 4 месяцев и 167 человек - в группу с продолжительностью лечения ≥ 6 месяцев. Средний ИМТ исходно составлял 40,7 кг/м², а средняя масса тела пациентов была равной 114,8 кг. В обеих группах наблюдалось клинически значимое снижение массы тела: у лиц с длительностью лечения в течение 4 месяцев и более -7,0 кг ($p < 0,001$) и -6,3%, в группе 6-месячной терапии -8,0 кг ($p < 0,001$) и -7,1%. Среди лиц, получавших лираглутид в течение 6 месяцев и более, 64,1% и 34,5% пациентов снизили массу тела на $\geq 5\%$ и $\geq 10\%$ соответственно. Полученные данные позволяют сделать вывод, что в реальных условиях применение лираглутида 3,0 мг в сочетании с модификацией питания и физической активности ассоциируется с клинически значимыми результатами, которые сопоставимы с таковыми по данным РКИ и, в частности, SCALE. Однако указанная работа являлась ретроспективной и не имела группы сравнения, что делает необходимым продолжение исследований с усовершенствованным дизайном в реальной клинической практике [130].

Ранее указанной группой авторов оценивалось влияние различных переменных на снижение массы тела, когда в качестве терапии использовался не лираглутид, а комплексные программы по коррекции рациона питания и физической активности. Результаты свидетельствовали, что лица более старшего возраста независимо от половой принадлежности лучше отвечали на лечение. Статус курения, этническая принадлежность, состояние здоровья, уровень

образования в данных исследованиях не являлись предикторами эффективности терапии у мужчин или женщин ($p > 0,05$) [70, 79]. В то же время в ряде других работ не было выявлено влияния возраста на эффективность терапии ожирения [59, 60, 74].

Н. Halawi и соавт. в качестве возможного предиктора эффективности терапии лираглутидом рассматривали скорость опорожнения желудка. Согласно полученным учеными данным медленное опорожнение желудка было связано с более выраженным снижением массы тела, особенно на ранних сроках лечения, а оценка изменения скорости его опорожнения, например, через 5 недель от старта терапии, может быть биомаркером успешного ответа и помочь в отборе кандидатов для длительного использования лираглутида [63].

В исследовании N. Germain и соавт. участвовали 80 лиц с ИМТ в пределах от 25 до 45 кг/м², у всех пациентов имелся установленный диагноз СД 2. Общий период лечения лираглутидом в дозировке 1,2 или 1,8 мг в сутки и наблюдения за пациентами составил 104 недели. Из исследуемых в качестве возможных предикторов исходных характеристик, к которым относились возраст, длительность СД, вес, рост, ИМТ, систолическое и диастолическое артериальное давление, уровень гликированного гемоглобина, С-пептида, глюкозы, индекса НОМА, печеночных ферментов, креатинина и показателей липидного спектра, только уровень С-пептида являлся предиктором более эффективного снижения массы тела: чем его исходные значения были меньше, тем более выраженным было похудение ($p < 0,001$) [54].

Исследование S.A. De Voer и соавт. было одним из первых, где имеющиеся у пациенток с ожирением и сахарным диабетом 2 типа характеристики ПП по данным опросника the Dutch Eating Behavior Questionnaire (DEBQ, T. Van Strein, 1986) оценивались как возможные предикторы вес-снижающего эффекта лираглутида 1,8 мг. Согласно полученным результатам, у лиц с экстернальным типом ПП отмечался худший ответ на терапию лираглутидом, в то время как максимального снижения массы тела достигли пациенты с ограничительным типом ПП [39]. В исследовании Е.В. Тихоненко и соавт. участвовали пациенты с СД 2

типа и ожирением с ИМТ ≥ 35 кг/м². При оценке влияния типа ПП на эффективность терапии агонистами ГПП-1 (лираглутидом или эксенатидом) не было выявлено статически значимого предиктора в виде конкретного варианта ПП, однако имелась статистическая тенденция ($p=0,071$) к лучшему ответу у пациентов с ограничительным типом (снижение ИМТ на 3,7 кг/м²) в сравнении с участниками, имевшими сочетание нескольких типов (снижение ИМТ на 2,7 кг/м²). Кроме того, в данном исследовании в качестве предикторов эффективности лираглутида выступили исходно больший ИМТ ($p=0,028$), более низкий уровень ГПП-1 натощак ($p=0,036$) и более низкий уровень грелина после пробы со стандартным завтраком ($p=0,022$) [10].

М. Blüher и соавторами была предпринята попытка идентифицировать предикторы эффективности (снижение веса на 10% и более к 56 неделе применения) терапии лираглутидом 3,0 мг в подгруппах «ожирение и предиабет» и «диабет» ранее упомянутого исследования SCALE. 2910 пациентам после рандомизации был назначен лираглутид в качестве дополнения к рекомендациям по коррекции питания и физической активности. 2487 лиц не имели установленного диагноза сахарного диабета 2 типа (из них 6% имели предиабет), средний возраст в данной подгруппе составлял 45 лет, 21% представляли мужчины, средний ИМТ – 38,0 кг/м². Число лиц в подгруппе таковых с сахарным диабетом 2 типа составило 423 пациента, средний возраст – 55 лет, 52% представляли мужчины, средний ИМТ – 37,0 кг/м². Из всех участников 2159 и 365 пациентов без и с СД 2 соответственно завершили 16-недельный период лечения и продолжили дальнейшую терапию лираглутидом 3,0 мг, повторная оценка эффективности проводилась на 56 неделе исследования. Было установлено, что так называемые «ранние ответчики», то есть лица, снизившие массу тела на 5% и более через 16 недель использования лираглутида, достигали среднего ее снижения к 56 неделе лечения на 11,5% в случае отсутствия СД 2 и на 9,3% в случае наличия СД 2, в то время как лица без клинически значимого ответа на терапию к 4 месяцу не имели результата в 10% и более к 56 неделе [25].

Учитывая, что агонисты ГПП-1Р относительно новая группа препаратов, опубликованных работ, сообщающих о выявленных предикторах эффективности, в том числе удобных к практическому применению, немного. В большинстве имеющихся публикаций, оценка предикторов проводилась в группах пациентов с СД 2 в сочетании с избыточной массой тела или ожирением, часто – на фоне сопутствующей сахароснижающей терапии, уже имевшей место до назначения лираглутида. Кроме того, в указанных исследованиях лираглутид применялся в дозировке 1,2 или 1,8 мг в сутки. В то же время, имеется малое число работ, где предикторы оценивались у пациентов с ожирением без нарушений углеводного обмена, а лираглутид назначался бы в дозировке 3,0 мг в сутки [112]. Таким образом, сохраняется необходимость дальнейшего поиска способов прогнозирования «раннего ответа» на терапию лираглутидом 3,0 мг у пациентов с экзогенно-конституциональным ожирением.

Заключение по обзору литературы

В основе терапии избыточной массы тела и ожирения без сомнения лежит долгосрочное изменение рациона питания и пищевых привычек, связанных с ним, а также интенсификация физической активности. В рамках первичной помощи данные меры могут быть эффективными, однако сопряжены с большим количеством сложностей, к основным из которых можно отнести трудности в соблюдении и закреплении новых установок, а также запуск на фоне ограничения калорийности рациона и сокращения объема жировых депо обратных механизмов, направленных на поддержание гомеостаза и выражающихся в повышении уровня орексигенных и снижении анорексигенных гормонов. В этой связи малое число пациентов достигает стойкого клинически значимого снижения массы тела хотя бы на 5% в течение 12-24 месяцев для уменьшения кардиоваскулярных и метаболических рисков [37]. Кроме того, у лиц с морбидными формами эффективность модификации образа жизни ниже, чем в популяции пациентов с ожирением в целом. Таким образом, возникает необходимость применения дополнительных методов, в том числе лекарственных средств, однако, учитывая неоднородность заболевания, высокую стоимость препаратов, а также факт, что у 1/3 пациентов не отмечается надлежащего ответа на терапию, требуется смена парадигмы, поиск предикторов эффективности различных вариантов лечения, а также разработка персонализированных протоколов.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Пациенты, включенные в исследование

Согласно поставленным целям и задачам в исследование было включено 82 человека: 42 пациента с установленным в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (директор - д.м.н., профессор, член-корр. РАН Мокрышева Н.Г.) диагнозом экзогенно-конституционального ожирения (код МКБ-10: E66.0 Ожирение, обусловленное избыточным поступлением энергетических ресурсов) и 40 здоровых участников с ИМТ в пределах 18,5 – 24,99 кг/м². Все пациенты с ожирением проходили обследование в отделе терапевтической эндокринологии (руководитель - д.м.н., проф., член-корр. РАН Трошина Е.А.) или обращались за медицинской консультацией в консультативно-диагностический центр (руководитель - д.м.н., проф. Волеводз Н.Н.) в период с 2016 по 2018 гг. Набор группы здоровых добровольцев также осуществлялся в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. Был использован сплошной способ формирования выборки. Выборка пациентов не может считаться репрезентативной в достаточной степени, что связано с довольно жесткими критериями исключения, диктуемыми как противопоказаниями применяемого в исследовании препарата (согласно официальной инструкции), так и желанием исследователя минимизировать количество факторов, потенциально влияющих на уровень эндогенных пептидных регуляторов и/или пищевое поведение.

Критериями включения в исследование для группы пациентов с ожирением являлись:

- пол: мужчины и женщины,
- возраст: 18-65 лет включительно,
- экзогенно-конституциональное ожирение с ИМТ от 30,0 кг/м² и более,
- длительность ожирения более 1 года,

- отсутствие клинически значимого снижения массы тела (5% и более) за последние 3 месяца до даты включения в исследование,

- подписание пациентом информированного согласия на участие в исследовании, проведение обследования и лечения.

Критериями исключения были:

- период беременности и лактации,
- ожирение вследствие вторичных причин,
- использование фармакотерапии ожирения на текущий момент, либо в течение предшествующих 3 месяцев,

- использование пациентом на момент включения в исследование диет с резким ограничением калоража (менее 800 ккал в сутки),

- использование на момент включения в исследование препаратов, которые потенциально могут привести к изменению массы тела и/или влиять на пищевое поведение,

- сахарный диабет любого типа или выявленные до включения в исследование ранние нарушения углеводного обмена (нарушенная гликемия натощак или нарушенная толерантность к глюкозе),

- прием сахароснижающих, гиполипидемических средств,

- психические заболевания, в том числе нервная анорексия и булимия, установленная лекарственная, алкогольная и наркотическая зависимость, депрессия средней и тяжелой степеней, суицидальные мысли, в том числе в анамнезе,

- нарушение функции почек и печени средней и тяжелой степеней,

- сердечная недостаточность III-IV функционального класса в соответствии с классификацией Нью-Йоркской кардиологической ассоциации,

- любые онкологические заболевания у пациента, в том числе медуллярный рак щитовидной железы,

- МРЩЖ в семейном анамнезе,

- синдром множественной эндокринной неоплазии 2 типа,

- воспалительные заболевания кишечника и парез желудка,

- декомпенсация хронических заболеваний на момент включения в исследование,

- отказ пациента от участия в исследовании.

Критериями включения в исследование для группы здоровых лиц являлись:

- пол: мужчины и женщины,

- возраст: 18-44 года включительно,

- ИМТ в пределах 18,5 – 24,99 кг/м²

- окружность талии (ОТ) менее 80 см у женщин и менее 94 см у мужчин,

- подписание информированного согласия на участие в исследовании и проведение обследования.

Критерии исключения для группы здоровых лиц определены как:

- период беременности и лактации,

- использование на момент включения в исследование диет с резким ограничением калоража (менее 800 ккал в сутки),

- психические заболевания, в том числе нервная анорексия и булимия, установленная лекарственная, алкогольная и наркотическая зависимость, депрессия средней и тяжелой степеней, суицидальные мысли, в том числе в анамнезе,

- любые онкологические заболевания,

- наличие любых острых заболеваний либо декомпенсация хронических заболеваний на момент включения в исследование,

- использование препаратов, которые потенциально могут привести к изменению массы тела и/или влиять на пищевое поведение,

- отказ пациента от участия в исследовании.

2.2. Дизайн исследования

Первая часть исследования (задача 1) являлась одномоментной и включала в себя здоровых добровольцев и больных с ожирением, всего – 82 человека. В рамках данной части в обеих группах проводилась оценка антропометрических

параметров, комплексное клинико-лабораторное обследование, анкетирование, а также набор и заморозка образцов крови для последующего определения в них уровней эндогенных пептидных биорегуляторов пищевого поведения.

Вторая часть исследования (задачи 2 - 4) являлась проспективной и когортной и включала в себя только пациентов с ожирением (42 человека). Они были разделены на 2 когорты сопоставимые по полу, возрасту и ИМТ:

1 группа - пациенты, которым в качестве терапии ожирения были даны стандартные рекомендации по коррекции рациона питания и физической активности (модификация образа жизни) [4, 44], что обозначено нами как «базовая терапия» (БТ),

2 группа - пациенты, которым в дополнение к вышеуказанным рекомендациям, была назначена терапия лираглутидом (БТ + лираглутид).

Инъекции лираглутида проводились согласно официальной инструкции 1 раз в сутки, стартовая доза составляла 0,6 мг. Всем пациентам было рекомендовано осуществлять инъекции подкожно в область живота в первой половине дня. Далее проводилась эскалация дозы на 0,6 мг еженедельно до достижения 3,0 мг в сутки. В среднем на эскалацию уходило 4 недели (как рекомендовано в инструкции). Далее пациенты осуществляли инъекции в дозе 3,0 мг в течение 3 месяцев.

Таким образом, общий срок наблюдения составил 3 месяца в группе модификации образа жизни и 4 месяца в группе комплексного лечения с использованием лираглутида.

Согласно клиническим рекомендациям по лечению ожирения, а также инструкции препарата, первичная оценка эффекта должна проводиться спустя 12 недель терапии в дозе 3,0 мг. Если снижение массы тела составляет 5% и более, лечение является эффективным и может быть продолжено [133].

Схема дизайна исследования представлена на рисунке 1.



Рисунок 1. Дизайн исследования

Хотя терапевтической дозой, зарегистрированной для лечения ожирения, является таковая со значением 3,0 мг в сутки, пациенты могут снижать вес в период эскалации дозы. В связи с различиями по общему сроку наблюдения в группах и предположением, а также данными наиболее крупного исследования по лираглутиду 3,0 мг [108] о линейной динамике изменения массы тела, нами был смоделирован предполагаемый результат в группе диетотерапии, если бы срок лечения и наблюдения в ней составлял 4 месяца.

В рамках заключительного визита (промежуточных визитов протокол исследования не предусматривал) производилась повторная оценка антропометрических параметров, клинико-лабораторное обследование, анкетирование, заморозка образцов крови для последующего определения грелина, обестатина, ГПП-1 и лептина. Определение уровней эндогенных пептидных регуляторов ПП было ретроспективным (в завершающей части исследования), что, в первую очередь, было связано с техническими особенностями использования наборов реагентов (грелин, обестатин и ГПП-1 не определяются в рутинной практике, в связи с чем имелаась надобность одномоментной постановки большого количества проб).

На этапе разработки дизайна исследования в проспективной части (участвовали только лица с ожирением) планировалось осуществление рандомизации пациентов на вышеуказанные группы. Однако на этапе практической реализации исследования рандомизация оказалась сложной к выполнению. Это связано с тем, что используемый препарат обладает довольно высокой стоимостью, в связи с чем, при попадании пациента в группу терапии лираглутидом вследствие рандомизации, многие участники отказывались от указанного лечения по финансовым причинам. Кроме того, часть пациентов не готова была получать терапию из-за инъекционного способа введения препарата. В этой связи рандомизация пациентов не проводилась, исследование было открытым. Пациентам, включенным в группу комплексной терапии с использованием лираглутида, дополнительно проводилось определение уровня кальцитонина крови с целью исключения медуллярного рака щитовидной железы.

Пациентов с уровнем кальцитонина выше референсного диапазона среди обследуемых не было.

2.3. Методы исследования

2.3.1. Клиническое обследование

Все участники осматривались врачом-исследователем на соответствие критериям включения и выявления возможного попадания под критерии исключения. Схема первичного обследования включала сбор жалоб, всех видов анамнеза, измерения антропометрических параметров, оценку артериального давления и частоты пульса.

В рамках сбора анамнеза и осмотра уточнялся наследственный анамнез, наличие острых и хронических заболеваний, прием лекарственных препаратов и биодобавок, вредные привычки, режим и фактический состав рациона питания на текущий момент, привычная физическая активность, изменение массы тела в течение жизни, в том числе – за последние 3 месяца, у женщин – гинекологический анамнез. У пациентов с ожирением дополнительно уточнялась длительность заболевания, наличие и количество членов семьи/родственников с ожирением, скорость набора веса, характер и количество предшествующих попыток снижения массы тела, в том числе с помощью фармакотерапии.

Измерение антропометрических показателей включало оценку роста, веса, вычисление ИМТ, измерение ОТ. Масса тела определялась в утреннее время в состоянии натощак на электронных весах (HL120, компания Avere–Berkel, Великобритания) с точностью до 0,1 кг. Рост определялся с помощью ростомера. ИМТ рассчитывался по формуле: $\text{ИМТ (кг/м}^2\text{)} = \text{масса тела(кг)}/\text{рост(м}^2\text{)}$. Согласно классификации Всемирной Организации Здравоохранения ИМТ интерпретировался как:

16,0 кг/м² и менее - выраженный дефицит массы тела,

16,0 - 18,5 кг/м² - недостаточная (дефицит) масса тела,

- 18,5 - 24,99 кг/м² – норма,
- 25,0 – 29,99 кг/м² - избыточная масса тела,
- 30,0 - 34,99 кг/м² - ожирение I степени,
- 35,0 - 39,99 кг/м² - ожирение II степени,
- ≥ 40,0 кг/м² - ожирение III степени (морбидное).

Измерение ОТ осуществлялось на уровне средней точки между нижним краем последнего прощупываемого ребра и верхней части гребня подвздошной кости с использованием устойчивой к растяжению сантиметровой ленты при обеспечении постоянного натяжения. ОТ ≥80 см у женщин и ≥ 94 см у мужчин оценивалась как наличие у пациента висцерального ожирения. Измерение АД проводилось трехкратно с расчетом среднего значения на полуавтоматическом тонометре Microlife BP A6 PC (Microlife AG, Швейцария) – точность измерения АД в пределах ± 3 мм рт. ст. Пульс измерялся трехкратно с подсчетом среднего и исследовался пальпаторно путем оценки пульсации на лучевой артерии за 60 секунд.

2.3.2. Лабораторные методы обследования

Биохимические и гормональные исследования проводились в клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (зав. лабораторией – к.м.н. Никанкина Л.В.). Учитывая, что на уровень грелина и лептина может потенциально влиять недостаток сна, всем пациентам был рекомендован сон длительностью не менее 7 часов накануне обследования. Забор крови производился в вакуумные пробирки с инертным гелем и этилендиаминтетрауксусной кислотой из кубитальной вены утром в период с 08:00 до 10:00 в состоянии натощак (голодание в течение не менее 8 и не более 14 часов до забора). Полученные пробы центрифугировались не позднее чем через 15 минут после забора с использованием центрифуги Eppendorf 5810R при температуре 4°C на скорости 3000 оборотов в минуту в течение 15 минут и затем поступали в работу. Биохимические показатели крови и уровень инсулина определялись в день взятия

крови. Образцы сыворотки и плазмы для последующего определения уровней лептина, грелина, обестатина и ГПП-1 подлежали временной заморозке в микропробирках при температуре -80°C . В микропробирки, содержащие плазму крови для дальнейшего определения уровня грелина, сразу после центрифугирования и до заморозки добавлялся консервант – 1 ммоль/л соляной кислоты в количестве 1/10 от общего объема плазмы.

Из биохимических показателей крови оценивались: глюкоза, общий холестерин сыворотки (ОХС), холестерин липопротеидов низкой плотности (хЛПНП), холестерин липопротеидов высокой плотности (хЛПВП), триглицериды (ТГ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), мочевиная кислота, креатинин, калий, натрий, общий кальций. Уровни всех вышеуказанных показателей определялись на автоматическом биохимическом анализаторе «Architect c8000» («Abbott Laboratories», США) по стандартным методикам с использованием реагентов производителя. Референсные интервалы для биохимических показателей крови составляли: глюкоза - 3,1 - 6,1 ммоль/л, ОХС - 3,3 - 5,2 ммоль/л, хЛПНП - 1,1 - 3,0 ммоль/л, хЛПВП - 0,9 - 2,6 ммоль/л для мужчин и 1,15 - 2,6 ммоль/л для женщин, триглицериды - 0,1 - 1,7 ммоль/л, АЛТ - 0,0 - 55,0 Ед/л, АСТ - 5,0 - 34,0 Ед/л, мочевиная кислота - 202 - 416 для мужчин и 142 - 339 мкмоль/л для женщин, креатинин – 50 - 98 мкмоль/л, калий – 3,5 – 5,1 ммоль/л, натрий – 136 – 145 ммоль/л, общий кальций – 2,15 – 2,55 ммоль/л. В соответствии с критериями Всемирной организации здравоохранения от 1999-2013 гг. уровень глюкозы венозной плазмы до 6,1 ммоль/л рассматривался как норма, уровень от 6,1 до 7,0 ммоль/л – как нарушенная гликемия натощак, уровень гликемии от 7,0 ммоль/л и более рассматривался как вероятностный в отношении наличия у пациента сахарного диабета [8], однако в нашем исследовании пациентов с подобными результатами не было.

Определение гликированного гемоглобина осуществлялось в капиллярной крови с использованием автоматического биохимического анализатора D10 (Bio-Rad Laboratories, США) и набора того же производителя по стандартной методике. Метод сертифицирован в соответствии с National Glycohemoglobin Standardization

Program. Нормальным считался уровень HbA1c до 6,0%. Данный показатель исследовался только у пациентов с ожирением.

Определение уровня иммунореактивного инсулина проводилось на электрохемилюминесцентном анализаторе Cobas 6000 (Roche, Швейцария), референсные значения: 2,6 - 24,9 мкЕ/мл. Для косвенной оценки инсулинорезистентности использовался индекс Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance (НОМА-IR), который рассчитывался по формуле: глюкоза плазмы натощак (ммоль/л) x инсулин (мкЕ/мл)/22,5. Значение индекса НОМА-IR < 2,7 расценивалось как норма.

Уровень активного (ацилированного) грелина плазмы крови определялся методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием наборов «Active Ghrelin ELISA Kit» компании Sceti, Япония. Чувствительность: 2,5 фмоль/мл. Уровень обестатина плазмы определялся методом конкурентного ИФА с использованием наборов «Human Obestatin EIA» компании Sceti, Япония. Чувствительность: 0,231 нг/мл. Уровень ГПП-1 плазмы исследовался методом конкурентного ИФА с использованием наборов «GLP-1 EIA Kit» компании Sceti, Япония. Чувствительность: 0,206 нг/мл. Уровень лептина сыворотки определялся методом ИФА с использованием наборов «Leptin ELISA» компании Diagnostics Biochem Canada Inc., Канада. Чувствительность: 0,42 нг/мл. Алгоритмы определения эндогенных пептидных регуляторов пищевого поведения осуществлялись согласно указанным в приложенных к наборам инструкциях. Для грелина, обестатина и ГПП-1 в сопровождающих наборы документах не были указаны разработанные референсные диапазоны. Согласно инструкциям, прилагаемым к наборам для определения лептина, лабораториям рекомендуется сбор данных и разработка собственных референсных интервалов, однако приводятся ожидаемые значения, которые составляют 3,7 – 11,1 нг/мл для худых женщин и 2,0 – 5,6 нг/мл для худых мужчин. Также было отмечено, что уровни лептина примерно в 2,5 раза выше у женщин по сравнению с мужчинами при пересчете на единицу ИМТ.

2.3.3. Специальные методы обследования

Исследование включало в себя анкетирование с использованием голландского опросника пищевого поведения the Dutch Eating Behavior Questionnaire, в том числе для пациентов с ожирением – в динамике. В рамках данного опросника проводился скрининг на наличие/отсутствие у исследуемого нарушений пищевого поведения по ограничительному, эмоциогенному и/или экстернальному типу. Опросник включал 33 вопроса: 1-10 вопрос представляли шкалу ограничительного, 11-23 – эмоциогенного и 24-33 – экстернального ПП. Каждый вопрос имел 5 вариантов ответа: "никогда", "редко", "иногда", "часто" и "очень часто", которые оценивались баллами по шкале от 1 до 5 соответственно. Вопрос №31 оценивался по шкале с обратными значениями. Для подсчета результата по каждой шкале ПП вычислялась сумма баллов из относящихся к ней ответов, получившуюся сумму делили на количество вопросов. Для лиц с ИМТ в пределах нормы средние показатели ограничительного, эмоциогенного и экстернального ПП составляют 2,4, 1,8 и 2,7 балла соответственно. Если у испытуемого получено большее значение по шкале/шкалам, чем приведенные ранее средние показатели, это может свидетельствовать о наличии у него нарушения пищевого поведения по указанному типу или комбинации нескольких типов.

2.4. Статистический анализ результатов исследования

Анализ данных проводился в соответствии с рекомендациями [6].

Статистическую обработку данных выполняли в программах Excel 2016 (Microsoft, USA), Statistica v. 13 (StatSoft, USA), IBM SPSS Statistics v25 (IBM, USA), GraphPad Prism v.8.0.1 (GraphPad Software, USA). Распределения количественных признаков представлены медианами и интерквартильными интервалами Me [Q1; Q3]. Сравнение количественных данных в независимых выборках проводили с помощью U-критерия Манна-Уитни (M-U), в зависимых

(значения до и после лечения) – с помощью критерия Вилкоксона. Анализ корреляционной связи между количественными переменными осуществляли с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (КСп). Для описания качественных переменных рассчитывали абсолютные и относительные частоты – n (%). Сравнение качественных переменных в независимых выборках выполнялось с помощью точного критерия Фишера (ТКФ). Оптимальные пороговые значения для количественных параметров оценивали с помощью расчета операционной кривой теста (ROC). Влияние количественных предикторов на эффективность снижения массы тела оценивали с помощью метода логистической регрессии. Для оценки качества математической модели применялся критерий Хосмера-Лемешова, а ее работоспособности – расчет операционных характеристик: чувствительности, специфичности, прогностической ценности положительного и отрицательного результатов (ПЦПР и ПЦОР) и их 95% доверительных интервалов (ДИ) по методу Клоппера-Пирсона [5, 6].

Статистически значимым признавали уровень ошибки первого рода менее 5% ($p < 0,05$). Для коррекции проблемы множественных сравнений применялась поправка Бонферрони. После применения поправки значения p в диапазоне между рассчитанным и 0,05 интерпретировались как статистическая тенденция.

2.5. Этическая экспертиза

Локальным этическим комитетом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России, согласно протоколу № 1 заседания от 25.01.2017 г., постановлено, что планируемая научная работа соответствует этическим стандартам добросовестной клинической практики и может быть проведена на базе отдела терапевтической эндокринологии и консультативно-диагностического центра.

Все пациенты подписывали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Клиническая характеристика обследованных лиц и сравнение групп

Первый этап включал в себя одномоментное клиническое и лабораторное обследование, а также анкетирование с использованием голландского опросника пищевого поведения DEBQ. В соответствии с поставленными задачами, дизайном и критериями включения/исключения в исследование было включено 82 человека (31 мужчина и 51 женщина) возрастом от 22 до 61 года, из них 42 пациента – с экзогенно-конституциональным ожирением и 40 здоровых добровольцев с ИМТ в пределах нормальных значений. У пациентов с ожирением длительность заболевания, согласно критериям включения, составляла не менее 1 года. Из них 40,5% имели ожирение первой степени, 35,7% - второй и 23,8% - третьей. Медиана возраста всех лиц, включенных в исследование, составила 30,00 [25,00; 39,00] лет. Группы были сопоставимы по полу ($p=0,459$, ТКФ) и статистически значимо отличались по массе тела и ИМТ ($p<0,001$, М-У), поскольку сама по себе группа здоровых лиц предполагала показатели антропометрических характеристик в пределах нормальных значений. Имелись статистически значимые различия по возрасту ($p<0,001$, М-У), что было обусловлено, с одной стороны, критериями включения/исключения: в группу здоровых лиц включались таковые без острых и серьезных хронических заболеваний, желательно, не получающие никакой фармакотерапии, и, с другой стороны, особенностями места набора участников: в «НМИЦ эндокринологии» как правило обращаются пациенты с наличием острых/декомпенсацией хронических заболеваний, в этой связи группа сравнения набиралась из штата сотрудников и учащихся Центра, согласных на участие в исследовании, из которых большинство составили лица молодого возраста.

Медианы показателей углеводного (глюкоза, инсулин, индекс НОМА-IR) и липидного обмена (ОХС, хЛПНП, ТГ), уровни трансаминаз (АЛТ, АСТ) и мочевой кислоты были статистически значимо выше в группе пациентов с экзогенно-

конституциональным ожирением, по сравнению с таковыми в группе здоровых добровольцев. Уровень хЛПВП был статистически значимо выше в группе сравнения ($p < 0,001$, М-У). Общая характеристика групп данного раздела, а также медианы их лабораторных показателей представлены в таблице 1.

Таблица 1. Клиническая характеристика пациентов с ожирением и здоровых лиц

Показатели	Пациенты с ожирением (n = 42)	Здоровые добровольцы (n = 40)	p**, тест Манна-Уитни***
Возраст, годы	39,00 [36,00; 48,00]*	25,00 [24,00; 26,50]	<0,001
Пол, ж, n (%)	29 (69%)	31 (78%)	0,459, ТКФ
Масса тела, кг	103,85 [91,50; 121,00]	56,75 [53,25; 59,50]	<0,001
Рост, м	1,67 [1,64; 1,73]	1,65 [1,62; 1,72]	0,149
ИМТ, кг/м ²	36,35 [33,26; 39,89]	20,61 [19,63; 22,47]	<0,001
ОТ, см	109,00 [101,00; 119,00]	67,50 [64,50; 73,50]	<0,001
Глюкоза, ммоль/л	5,35 [4,92; 5,60]	4,99 [4,73; 5,32]	0,002
Инсулин, мкЕ/мл	16,51 [11,38; 21,00]	8,71 [5,85; 11,42]	<0,001
НОМА-IR	3,91 [2,68; 5,37]	1,78 [1,28; 2,67]	<0,001
HbA _{1c} , %	5,50 [5,30; 5,80]	не определялся в данной группе согласно дизайну	-
ОХС, ммоль/л	5,14 [4,58; 6,23]	4,67 [4,14; 5,22]	0,0028
хЛПНП, ммоль/л	3,34 [2,82; 4,14]	2,50 [2,15; 3,09]	<0,001
хЛПВП, ммоль/л	1,23 [1,00; 1,43]	1,78 [1,61; 2,04]	<0,001
ТГ, ммоль/л	1,31 [0,82; 1,88]	0,67 [0,59; 0,83]	<0,001

АЛТ, Ед/л	29,00 [21,00; 42,00]	13,00 [11,00; 19,00]	<0,001
АСТ, Ед/л	21,00 [19,00; 27,00]	17,5 [15,00; 20,00]	<0,001
Мочевая кислота, мкмоль/л	346,61 [297,33; 425,00]	235,67 [206,13; 285,08]	<0,001

ж – женщины;

*Для количественных признаков приводится медиана и интерквартильные интервалы - Me [Q1; Q3]

** Пороговый $P_0=0,0031$ (после применения поправки Бонферрони)

***В случаях использования других статистических тестов они дополнительно указаны

Медиана ОТ была статистически значимо выше у пациентов с ожирением ($p<0,001$, М-У): в соответствии с критериями исключения в группе здоровых добровольцев не было лиц с его висцеральной формой. При этом среди пациентов с ИМТ ≥ 30 кг/м² все женщины имели ОТ ≥ 80 см, а все мужчины ≥ 94 см, хотя наличие абдоминального ожирения не являлось обязательным условием в данной группе. У лиц с ожирением исходная масса тела и ИМТ положительно коррелировали с величиной окружности талии ($p<0,001$, $r=0,835$ и $p<0,001$, $r=0,810$ соответственно, КСп).

В ходе обследования ни у одного из участников не выявлено уровня глюкозы натощак $\geq 7,0$ ммоль и/или гликированного гемоглобина $\geq 6,5\%$, характерных для диагноза сахарного диабета. Уровень глюкозы крови имел прямую корреляцию с величиной массы тела, ИМТ и ОТ ($p=0,005$, $r=0,689$; $p=0,008$, $r=0,654$ и $p=0,006$, $r=0,672$ соответственно, КСп). Медиана значений косвенного маркера инсулинорезистентности индекса НОМА-IR и доля лиц с повышением его уровня $\geq 2,7$ были статистически выше среди пациентов с ожирением ($p<0,001$ М-У, ТКФ). Интересно, что по удельному весу лиц с повышенным ОХС статистических различий между группами выявлено не было ($p=0,07$, ТКФ), при этом доля лиц с изменениями других параметров липидного обмена (хЛПНП, хЛПВП, ТГ) была

статистически значимо выше среди пациентов с ожирением ($p < 0,001$, $p < 0,003$ и $p < 0,001$ соответственно, ТКФ). (таблица 2)

Таблица 2. Частота метаболических нарушений в исследуемых группах

Показатели	Пациенты с ожирением (n = 42)	Здоровые добровольцы (n = 40)	p**, ТКФ
Висцеральное ожирение	42 (100%)*	0 (0%)	<0,001
Нарушенная гликемия натощак	3 (7%)	0 (0%)	0,241
Повышенный уровень инсулина натощак	4 (10%)	0 (0%)	0,303
НОМА-IR $\geq 2,7$	24 (57%)	2 (5%)	<0,001
Повышение HbA _{1c} $\geq 6,0$ %	7 (17%)	не определялся в данной группе согласно дизайну	-
Повышенный ОХС	19 (45%)	10 (25%)	0,067
Повышенный хЛПНП	29 (69%)	12 (30%)	<0,001
Снижение хЛПВП	11 (26%)	1 (3%)	0,003
Гипертриглицеридемия	13 (31%)	1 (3%)	<0,001
Повышение АЛТ	5 (12%)	0 (0%)	0,055
Повышение АСТ	6 (14%)	2 (5%)	0,265
Гиперурикемия	18 (43%)	0 (0%)	<0,001

* n (%)

** Пороговый $P_0 = 0,005$ (после применения поправки Бонферрони)

3.2. Уровни эндогенных пептидных биорегуляторов пищевого поведения (лептина, грелина, обестатина, глюкагоноподобного пептида-1) у пациентов с экзогенно-конституциональным ожирением и здоровых лиц

Уровни всех эндогенных пептидных биорегуляторов пищевого поведения, определяемых в нашем исследовании, оценивались в состоянии натощак (таблица 3).

Таблица 3. Секретция эндогенных пептидных биорегуляторов у пациентов с ожирением и здоровых лиц

Уровень пептидного регулятора	Пациенты с ожирением (n = 42)	Здоровые добровольцы (n = 40)	p**, тест Манна-Уитни
Грелин, фмоль/мл	6,21 [3,72; 8,67]*	13,79 [9,80; 18,47]	<0,001
Обестатин, нг/мл	2,26 [1,74; 3,08]	3,47 [3,20; 3,91]	<0,001
ГПП-1, нг/мл	3,71 [2,74; 5,40]	3,38 [2,89; 4,34]	0,313
Лептин, нг/мл	56,12 [29,83; 89,76]	10,34 [5,29; 27,35]	<0,001

* Me [Q1; Q3]

** Пороговый $P_0=0,013$ (после применения поправки Бонферрони)

При сравнении пациентов с ожирением с группой здоровых лиц обнаружены статистически значимые различия: более низкие уровни грелина и обестатина и более высокие уровни лептина (во всех случаях $p < 0,001$, М-У). Различий в уровне базального ГПП-1 не выявлено ($p=0,31$, М-У). В обеих группах не было отмечено влияния возраста на уровень грелина, обестатина и ГПП-1 ($p > 0,05$, КСп). Среди здоровых добровольцев имелась тенденция к положительной корреляции уровня лептина с возрастом ($p=0,049$, $r=0,877$, КСп).

Важной находкой явилось обнаружение корреляционной взаимосвязи между уровнем лептина и выраженностью экстернального пищевого поведения среди

пациентов с ожирением ($p=0,004$, $r=0,539$, КСп), при этом в группе сравнения такой взаимосвязи выявлено не было ($p>0,05$, КСп).

Учитывая, что определение уровня грелина и обестатина на текущий момент производится только в научных целях, не существует референсных интервалов для интерпретации выявленных значений. В этой связи с целью дальнейшей статистической обработки данных было проведено определение оптимальных отрезных точек для уровня данных пептидов: осуществлен ROC-анализ результатов обследования пациентов. В рамках анализа рассчитаны площади под ROC-кривыми с двусторонними 95% доверительными интервалами.

Площадь под ROC-кривой (95% ДИ) для уровня грелина составила 0,846 (0,759-0,933) (рисунок 2). Уровень грелина 9,774 фмоль/мл позволил дифференцировать пациентов с ожирением и без него с чувствительностью 83,3% (95% ДИ: 69,4-91,7) и специфичностью 80,0% (95% ДИ: 65,2-89,5). При изменении порогового значения в сторону большей чувствительности наблюдалось снижение нижней границы доверительного интервала для специфичности менее 50%, поэтому данное пороговое значение было установлено в качестве оптимальной отрезной точки уровня грелина.

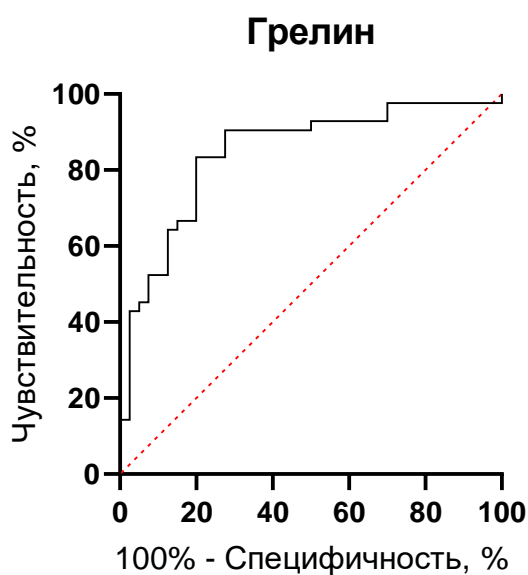


Рисунок 2. ROC-кривая для уровня грелина ($n=82$, пациенты с ожирением и здоровые добровольцы)

Площадь под ROC-кривой (95% ДИ) для уровня обестатина составила 0,872 (0,799-0,945) (рисунок 3).

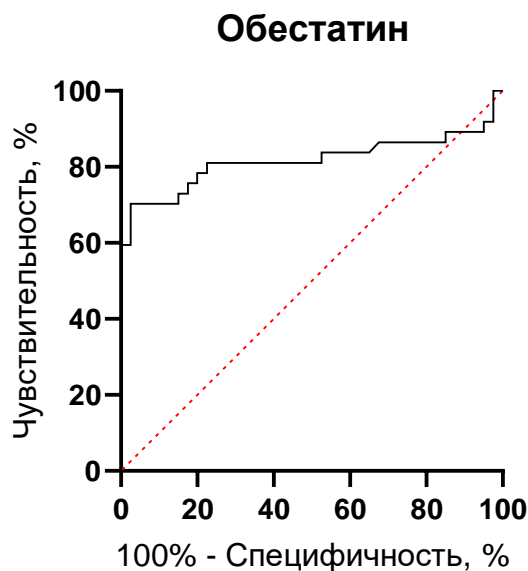


Рисунок 3. ROC-кривая для уровня обестатина (n=82, пациенты с ожирением и здоровые добровольцы)

Уровень обестатина 3,157 нг/мл позволил дифференцировать пациентов с ожирением и без него с 81,1% чувствительностью (95% ДИ: 65,8-90,5) и 77,5% специфичностью (95% ДИ: 62,5-87,7). Увеличение порогового значения приводило к росту чувствительности до 100%, но при этом нижняя граница доверительного интервала для специфичности снижалась менее 50%, поэтому пороговое значение 3,157 было установлено в качестве оптимальной отрезной точки для уровня обестатина.

3.3. Анализ пищевого поведения с использованием голландского опросника the Dutch Eating Behavior Questionnaire

Опросник DEBQ для выявления у пациентов признаков нарушений пищевого поведения по типу ограничительного, эмоциогенного и экстернального является

одним из наиболее часто используемых в научных исследованиях. Методика расчета результатов описана в главе 2 диссертации.

Результаты анализа типов пищевого поведения в обеих исследуемых группах приведены в таблице 4.

Таблица 4. Анализ и сравнение характеристик пищевого поведения по данным опросника DEBQ

Тип пищевого поведения	Пациенты с ожирением (n = 42)	Здоровые добровольцы (n = 40)	p**, тест Манна-Уитни
Ограничительный (≥ 2,4 балла)	3,15 [2,40; 3,40]* n=38***	2,70 [2,10; 3,20]	0,117
Эмоциогенный (≥ 1,8 балла)	2,96 [2,00; 3,85] n=38	2,19 [1,54; 2,96]	0,015
Экстернальный (≥ 2,7 балла)	3,19 [2,70; 3,70] n=38	3,10 [2,50; 3,70]	0,826

* Me [Q1; Q3]

** Пороговый $P_0=0,017$ (после применения поправки Бонферрони)

*** Указано число пациентов, если оно было меньше общего числа пациентов в группе

Среди лиц с ожирением значения медиан для всех типов ПП были выше, чем в группе здоровых добровольцев, однако статистически значимые различия выявлены только по шкале эмоциогенного ПП ($p=0,015$, М-У). По данным опросника 100% [92%; 100%] пациентов с ожирением имели хотя бы один выявляемый тип нарушения ПП, в то время как в группе здоровых лиц у 25% [9%; 49%] результаты по всем шкалам соответствовали нормальным значениям. Результаты опроса свидетельствовали, что среди лиц с ожирением преобладали таковые с эмоциогенным ПП (79%), в то время как среди лиц без ожирения

наиболее часто выявлялись признаки экстернального (у 65%). Статистически значимые различия установлены по частоте эмоциогенного ПП (($p=0,009$, ТКФ) таблица 5). В обеих группах возраст не влиял на выраженность нарушений ПП ($p>0,05$, КСп). Среди пациентов с ожирением выявлена положительная корреляция между выраженностью эмоциогенного и экстернального типов нарушения ПП ($p=0,002$; $r=0,723$, КСп).

Таблица 5. Частота различных типов ПП у пациентов с ожирением и здоровых лиц по данным опросника DEBQ

Тип нарушения пищевого поведения	Пациенты с ожирением (n = 42)	Здоровые добровольцы (n = 40)	p**, ТКФ
Ограничительный	27 (71%)* n=38***	23 (58%)	0,244
Эмоциогенный	30 (79%) n=38	20 (50%)	0,009
Экстернальный	26 (68%) n=38	26 (65%)	0,813
Отсутствовали нарушения ПП	0 (0%)	10 (25%)	0,001

*n (%)

** Пороговый $P_0=0,013$ (после применения поправки Бонферрони)

*** Указано число пациентов, если оно было меньше общего числа пациентов в группе

3.4. Проспективное исследование: динамика уровней эндогенных пептидных биорегуляторов, выраженности нарушений пищевого поведения и метаболических показателей у пациентов с ожирением на фоне лечения

Во второй части исследования пациенты с ожирением были разделены на две группы: первая (20 человек) получила рекомендации по коррекции рациона питания и физической активности (базовая терапия(БТ)), во второй (22 человека) –

в дополнение к указанным рекомендациям была инициирована медикаментозная терапия лираглутидом (комплексная терапия). Особенности титрации дозы препарата, а также критерии распределения пациентов по группам описаны в главе 2. Исходно группы были сопоставимы между собой по всем оцениваемым параметрам, в том числе по полу, возрасту, антропометрическим и метаболическим характеристикам, а также медианам уровней пептидных эндогенных пептидных биорегуляторов и выраженности нарушений пищевого поведения согласно опроснику ($p > 0,002$, М-У) таблица 6).

Таблица 6. Сравнение исходных параметров пациентов с ожирением (группа базовой и комплексной терапии) до начала лечения

Показатели	БТ (n = 20)	БТ+Лираглутид (n = 22)	p**, тест Манна-Уитни***
Возраст, лет	40,00 [33,00; 48,50]*	39,00 [37,00; 48,00]	0,696
Пол, ж, п, %	14, 70 %	15, 68 %	1,000***, ТКФ
Масса тела, кг	102,00 [89,00; 111,00]	104,35 [98,00; 124,50]	0,392
Рост, м	1,67 [1,64; 1,72]	1,67 [1,64; 1,74]	0,669
ИМТ, кг/м ²	35,09 [33,32; 38,33]	37,19 [33,18; 42,79]	0,358
ОТ, см	107,00 [99,75; 118,00]	110,00 [103,00; 121,50]	0,840
Глюкоза, ммоль/л	5,25 [4,84; 5,48]	5,44 [5,20; 5,67]	0,096
Инсулин, мкЕ/мл	14,79 [10,51; 18,34]	17,51 [12,00; 23,34]	0,209
НОМА-IR	3,41 [2,42; 4,56]	4,17 [2,78; 5,73]	0,245
HbA _{1c} , %	5,50 [5,30; 5,80]	5,45 [5,20; 5,70]	0,562
ОХС, ммоль/л	5,17 [4,91; 5,97]	5,11 [4,40; 6,23]	0,632
хЛПНП, ммоль/л	3,24 [3,00; 4,05]	3,44 [2,77; 4,14]	0,929

ХЛПВП, ммоль/л	1,23 [1,07; 1,60]	1,23 [0,95; 1,39]	0,632
ТГ, ммоль/л	1,14 [0,81; 1,74]	1,38 [0,83; 2,14]	0,358
АЛТ, Ед/л	26,00 [21,50; 41,00]	32,00 [20,00; 42,00]	0,821
АСТ, Ед/л	23,00 [19,00; 36,50]	21,00 [18,10; 24,00]	0,151
Мочевая кислота, мкмоль/л	356,81 [320,08; 411,62]	335,28 [290,00; 425,00]	0,488
Грелин, фмоль/мл	6,42 [3,93; 8,23]	6,07 [3,41; 9,22]	0,497
Обестатин, нг/мл	2,93 [1,90; 3,64]	1,85 [1,73; 2,26]	0,017
ГПП-1, нг/мл	3,41 [2,64; 7,07]	3,98 [2,91; 4,89]	0,796
Лептин, нг/мл	41,95 [31,09; 75,17]	66,49 [29,83; 108,12]	0,162
Ограничительный тип ПП, баллы	3,10 [2,40; 3,40] n=19****	3,30 [2,30; 3,70] n=19	0,640
Эмоциогенный тип ПП, баллы	2,54 [2,00; 3,77] n=19	3,77 [1,77; 4,23] n=19	0,115
Экстернальный тип ПП, баллы	3,00 [2,70; 3,70] n=19	3,10 [2,60; 3,90] n=19	0,693

* Me [Q1; Q3]

** Пороговый $P_0=0,002$ (после применения поправки Бонферрони)

***В случаях использования других статистических тестов они дополнительно указаны

**** Указано число пациентов, если оно было меньше общего числа пациентов в группе

Наиболее частыми побочными эффектами применения лираглутида являлись таковые со стороны желудочно-кишечного тракта: 36% пациентов отмечали тошноту (при этом эпизодов рвоты не было), 27% - снижение частоты стула, 14% - метеоризм, по 10% - диарею и периодическую отрыжку. Однако стоит отметить, что у подавляющего большинства указанные явления были транзиторными, появляясь спустя 1-2 недели от начала лечения, и проходили к 4-5 неделе, при этом постепенная эскалация дозы способствовала снижению их выраженности.

Серьезных нежелательных побочных явлений в группе комбинированной терапии за период наблюдения не выявлено. В группе базовой терапии не было отмечено каких-либо побочных эффектов. Все пациенты завершили протокол исследования.

Через 3 месяца было проведено повторное клинико-лабораторное обследование. В обеих группах было отмечено статистически значимое снижение массы тела, ИМТ и ОТ (во всех случаях $p < 0,007$, тест Вилкоксона) (рисунки 4, 5, 6).

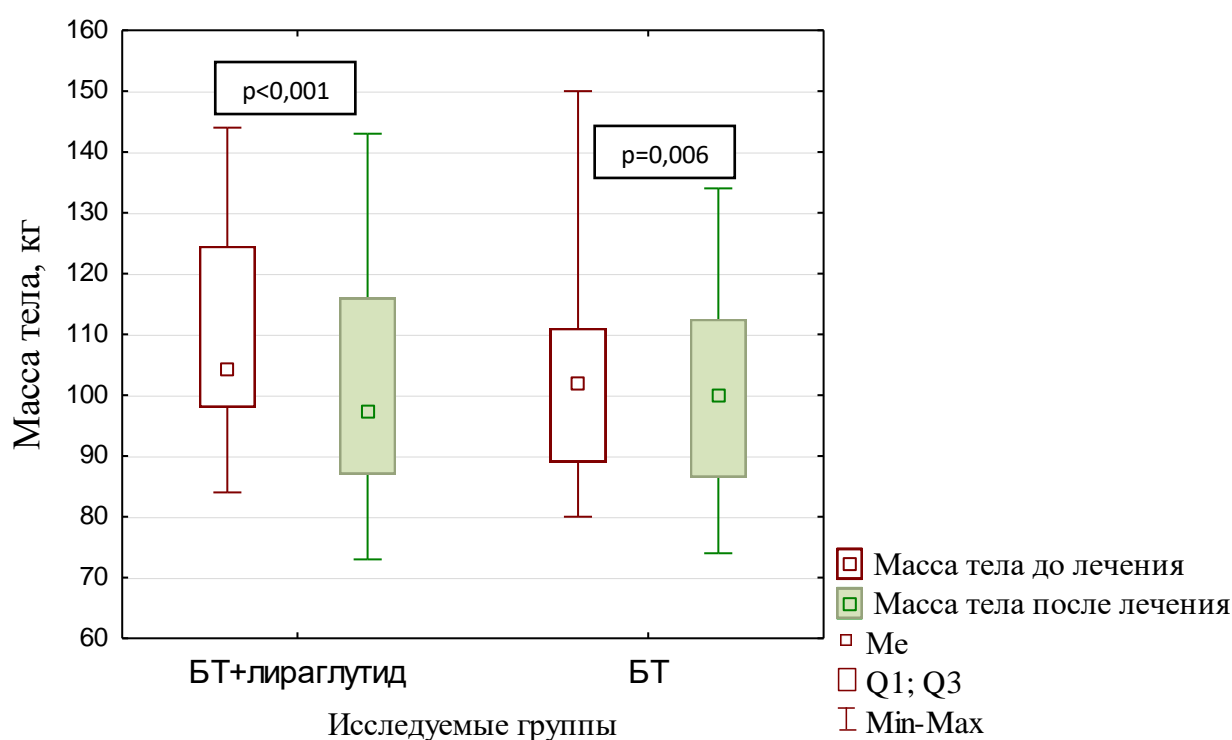


Рисунок 4. Изменение массы тела в исследуемых группах (БТ + лираглутид, $n=22$ и БТ, $n=20$), тест Вилкоксона

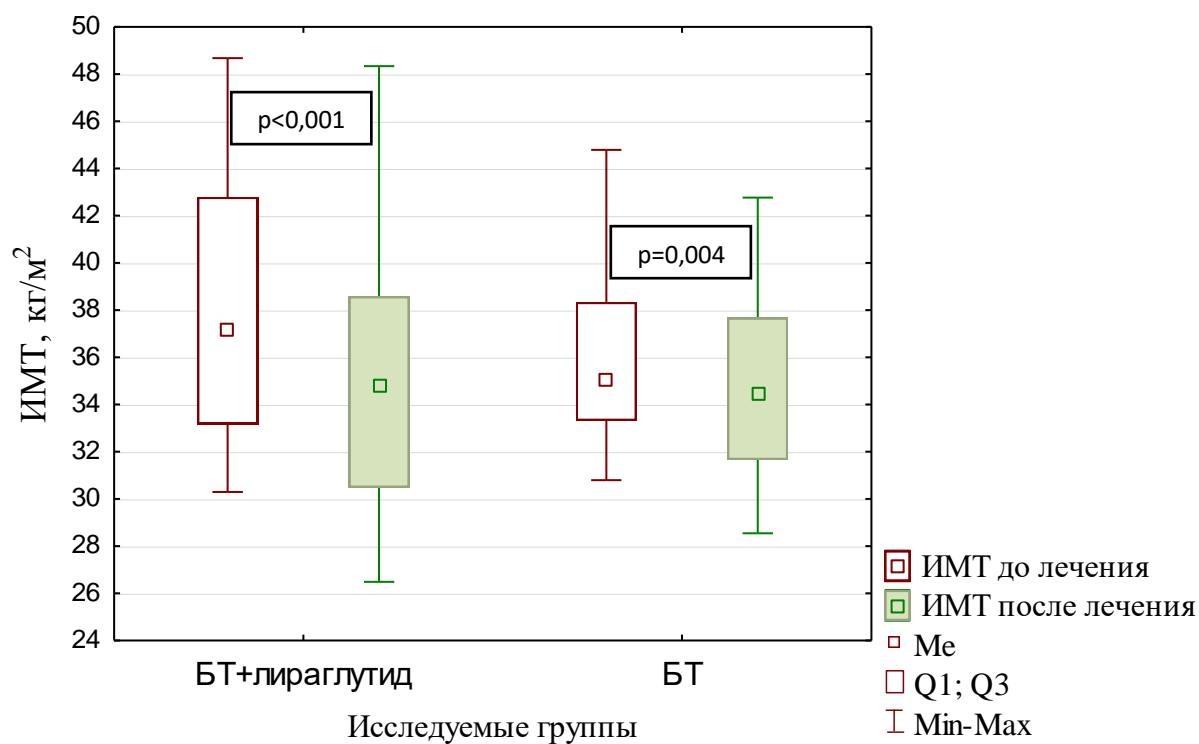


Рисунок 5. Изменение ИМТ в исследуемых группах (BT + лираглутид, n=22 и BT, n=20), тест Вилкоксона

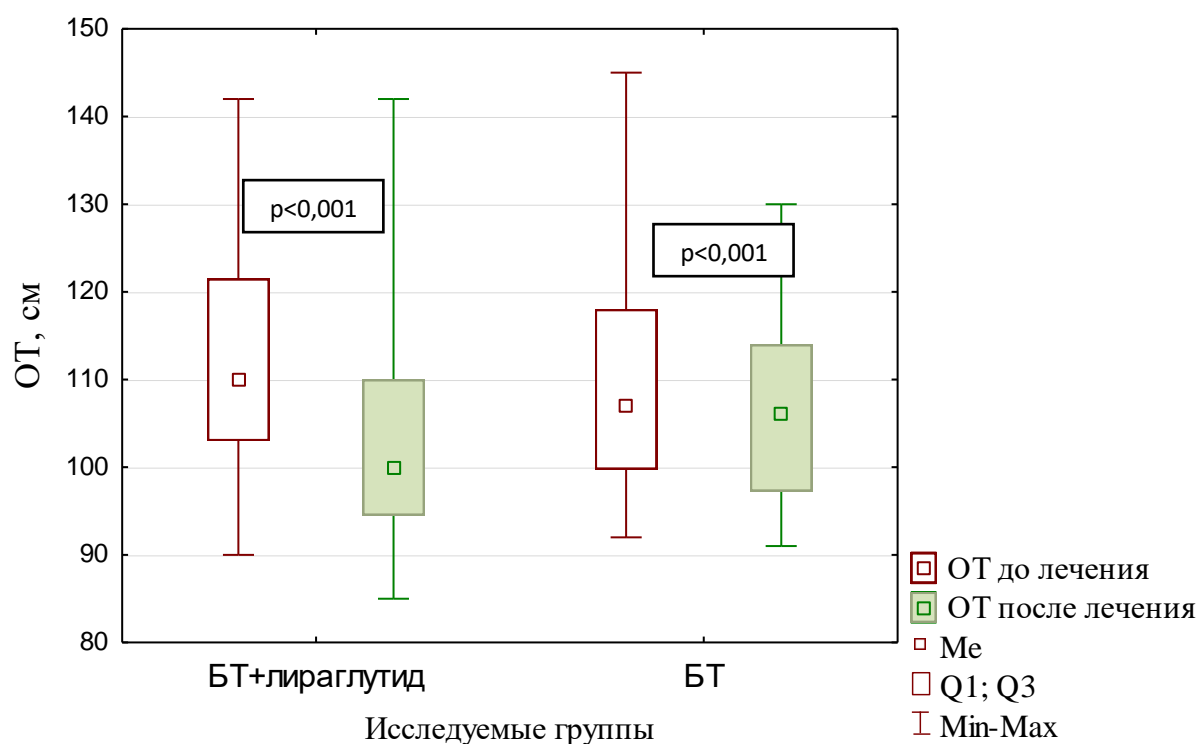


Рисунок 6. Изменение окружности талии в исследуемых группах (BT + лираглутид, n=22 и BT, n=20), тест Вилкоксона

В группе комплексного лечения спустя 3 месяца терапии лираглутидом в дозировке 3,0 мг в сочетании с модификацией образа жизни помимо статистически значимого снижения всех оцениваемых антропометрических параметров, также отмечалась статистическая тенденция к снижению уровня глюкозы ($p=0,022$, тест Вилкоксона), инсулина ($p=0,023$, тест Вилкоксона) и индекса НОМА-IR ($p=0,009$, тест Вилкоксона).

При повторной оценке пищевого поведения по данным опросника DEBQ статистически значимых различий с исходной выраженностью ограничительного, эмоциогенного и экстернального пищевого поведения в обеих группах выявлено не было ($p>0,017$, тест Вилкоксона), таблицы 7,8).

Таблица 7. Сравнение выраженности нарушений ПП по данным опросника до и через 3 месяца применения базовой терапии

Тип ПП	Исходно	Через 3 мес. терапии	p^{**} , тест Вилкоксона
Ограничительный, баллы	3,10 [2,40; 3,40]*	3,10 [2,70; 3,70]	0,124
Эмоциогенный, баллы	2,54 [2,00; 3,77]	2,46 [2,00; 3,54]	0,249
Экстернальный, баллы	3,00 [2,70; 3,70]	2,80 [2,80; 3,30]	0,116

* Me [Q1; Q3]

** Пороговый $P_0=0,017$ (после применения поправки Бонферрони)

Таблица 8. Сравнение выраженности нарушений ПП по данным опросника до и через 3 месяца применения комплексной терапии (БТ + лираглутид)

Тип ПП	Исходно	Через 3 мес. терапии	p**, тест Вилкоксона
Ограничительный, баллы	3,30 [2,30; 3,70]*	3,50 [2,60; 3,90]	0,977
Эмоциогенный, баллы	3,77 [1,77; 4,23]	2,69 [2,00; 3,85]	0,109
Экстернальный, баллы	3,10 [2,60; 3,90]	2,80 [2,30; 3,20]	0,103

* Me [Q1; Q3]

** Пороговый $P_0=0,017$ (после применения поправки Бонферрони)

Сравнение уровней эндогенных пептидных биорегуляторов исходно и через 3 месяца применения базовой терапии не выявило статистически значимых изменений ($p>0,013$, тест Вилкоксона) таблица 9).

Таблица 9. Сравнение уровней эндогенных пептидных биорегуляторов до и через 3 месяца применения базовой терапии

Показатели	Исходно	Через 3 мес. терапии	p**, тест Вилкоксона
Грелин, фмоль/мл	6,42 [3,93; 8,23]*	6,49 [3,44; 12,26]	0,940
Обестатин, нг/мл	2,93 [1,90; 3,64]	2,96 [2,04; 3,87]	1,000
ГПП-1, нг/мл	3,41 [2,64; 7,07]	3,42 [2,60; 3,99]	0,126
Лептин, нг/мл	41,95 [31,09; 75,17]	42,17 [29,45; 83,08]	0,191

* Me [Q1; Q3]

** Пороговый $P_0=0,013$ (после применения поправки Бонферрони)

В случае комплексного лечения отмечено статистически значимое снижение уровня лептина ($p=0,006$, тест Вилкоксона), при этом таковых изменений в уровне грелина, обестатина и ГПП-1 не выявлено ($p>0,013$, тест Вилкоксона) таблица 10).

Таблица 10. Сравнение уровней эндогенных пептидных биорегуляторов до и через 3 месяца применения комплексной терапии (БТ + лираглутид)

Показатели	Исходно	Через 3 мес. терапии	p^{**} , тест Вилкоксона
Грелин, фмоль/мл	6,07 [3,41; 9,22]*	6,40 [5,29; 10,59]	0,123
Обестатин, нг/мл	1,85 [1,73; 2,26]	1,95 [1,72; 2,29]	0,605
ГПП-1, нг/мл	3,98 [2,91; 4,89]	2,92 [2,67; 4,05]	0,215
Лептин, нг/мл	66,49 [29,83; 108,12]	53,25 [34,25; 81,84]	0,006

* Ме [Q1; Q3]

** Пороговый $P_0=0,013$ (после применения поправки Бонферрони)

При сравнении динамики клинико-лабораторных параметров было отмечено, что Δ массы тела, Δ ИМТ и Δ глюкозы в группе комбинированного лечения статистически значимо превосходила таковые в группе базовой терапии ($p<0,007$, М-У). Также отмечалась статистическая тенденция к большему снижению окружности талии среди пациентов, получавших лираглутид в сочетании с модификацией образа жизни ($p=0,028$, М-У), таблица 11).

Таблица 11. Сравнение динамики клинико-лабораторных параметров в исследуемых группах

Показатели	БТ (n=20)	БТ+Лираглутид (n=22)	p^{**} , тест Манна-Уитни
Масса тела _{после-до} , кг	-1,75 [-5,00; 0,00]*	-7,30 [-11,50;-4,50]	<0,001
ИМТ _{после-до} , кг/м ²	-0,63 [-1,79; 0,00]	-2,51 [-4,05; -1,39]	<0,001

ОТ _{после-до} , см	-3,0 [-5,75; -0,25]	-6,00 [-9,50;-4,00]	0,028
Глюкоза _{после-до} , ммоль/л	0,19 [-0,05; 0,57]	-0,44 [-0,63;0,13]	0,006
Инсулин _{после-до} , мкЕ/мл	0,34 [-5,71; 4,27]	-2,97 [-11,40;0,03]	0,097
НОМА-IR _{после-до}	0,14 [-1,07; 1,58]	-0,71 [-2,90;0,10]	0,092
HbA _{1c} _{после-до} , %	-0,1 [-0,25; 0,05]	0,00 [-0,30;0,10]	0,892

* Me [Q1; Q3]

** Пороговый $P_0=0,007$ (после применения поправки Бонферрони)

Сравнение данных опросника пищевого поведения не показало статистически значимых различий в его динамике ни по одному из типов между группами базовой и комбинированной терапии ($p>0,017$, М-У), таблица 12).

Таблица 12. Сравнение динамики выраженности нарушений пищевого поведения по опроснику DEBQ в исследуемых группах на фоне лечения

Тип ПП	БТ (n=20)	БТ+Лираглутид (n=22)	p**, тест Манна-Уитни
Ограничительный _{после-до} , баллы	0,00 [-0,20; 0,50]* n=19***	0,00 [-0,30; 0,30] n=19	0,417
Эмоциогенный _{после-до} , баллы	0,08 [-0,23; 0,61] n=19	-0,15 [-0,77; 0,15] n=19	0,089
Экстернальный _{после-до} , баллы	-0,20 [-0,50; 0,20] n=19	-0,10 [-0,70; 0,10] n=19	0,879

* Me [Q1; Q3]

** Пороговый $P_0=0,017$ (после применения поправки Бонферрони)

*** Указано число пациентов, если оно было меньше общего числа пациентов в группе

При сравнении динамики уровня грелина, обестатина и ГПП-1 статистически значимых различий между группами базовой и комбинированной терапии

выявлено не было ($p > 0,013$, М-У) таблица 13). В то же время, отмечены статистически значимые различия в динамике уровня лептина ($p = 0,008$, М-У): анализ показал, что в группе базовой терапии Ме Δ лептина имела положительное значение (6,63 нг/мл), что, в целом, говорит о росте показателя среди лиц с модификацией образа жизни, тогда как Ме Δ лептина в группе, получавшей БТ + лираглутид, составила -10,47 нг/мл, что свидетельствует о преимущественном снижении показателя в данной группе. Интересной находкой при проведении корреляционного анализа явилось отсутствие статистически значимой взаимосвязи между динамикой массы тела и динамикой уровня лептина в группе комбинированной терапии ($p = 0,116$, КСп), что может свидетельствовать о независимом от снижения массы тела воздействии лираглутида на чувствительность к лептину (то есть коррекцию им лептинорезистентности).

Таблица 13. Сравнение динамики уровней эндогенных пептидных биорегуляторов ПП в исследуемых группах на фоне лечения

Показатели	БТ (n=20)	БТ+Лираглутид (n=22)	p**, тест Манна-Уитни
Грелин после-до, фмоль/мл	-0,75 [-2,83; 5,32]*	1,54 [-0,53; 4,22]	0,284
Обестатин после-до, нг/мл	0,13 [-0,55; 0,50]	0,04 [-0,19; 0,23]	0,886
ГПП-1 после-до, нг/мл	-0,28 [-1,81; 0,25]	-0,62 [-1,49; 0,54]	0,962
Лептин после-до, нг/мл	6,63 [-10,32; 24,72]	-10,47 [-32,31; 4,05]	0,008

* Ме [Q1; Q3]

** Пороговый $P_0 = 0,013$ (после применения поправки Бонферрони)

Особенностью нашего исследования явилось различие сроков наблюдения в сравниваемых группах: модификация образа жизни (базовая терапия) осуществлялась в течение 3 месяцев, в то время как в группе комплексной терапии

(БТ + лираглутид) общий период лечения составил 4 месяца. Это связано с тем, что в первый месяц лечения лираглутидом происходит постепенная эскалация дозы до терапевтической – 3,0 мг в сутки: именно она зарегистрирована для лечения ожирения, в связи с чем оценка снижения массы тела согласно инструкции препарата и клиническим рекомендациям по лечению ожирения должна производиться спустя 3 месяца лечения в данной дозировке. С другой стороны, в период увеличения суточной дозы до надлежащей, у части пациентов может отмечаться снижение массы тела. В этой связи, для пациентов из группы БТ величина динамических изменений массы тела была проанализирована как в исходном виде, так и со смоделированным увеличением срока наблюдения на 1 месяц (таблица 14). Снижение массы тела было статистически значимо большим в группе комбинированного лечения, как до (см. таблицу 11), так и после поправки на время наблюдения (($p=0,005$, М-У), таблица 14).

Таблица 14. Динамика массы тела в исследуемых группах с поправкой на время наблюдения

Показатели	БТ* (n = 20)	БТ + Лираглутид (n = 22)	p, тест Манна-Уитни
Массы тела <small>после-до</small> , кг	-2,33 [-6,65; 0,00]**	-7,30 [-11,50;-4,50]	0,005

*Значение параметров после поправки на срок наблюдения

** Me [Q1; Q3]

В обеих группах было проанализировано число лиц с клинически значимым снижением массы тела. Доля лиц, получавшая комплексную терапию, в том числе лираглутид в суточной дозировке 3,0 мг в течение 3 месяцев с предшествующей ее эскалацией в течение одного месяца, статистически значимо превосходила долю лиц, находившуюся на базовом лечении в течение 3 месяцев (($p=0,016$, ТКФ), таблица 15).

Таблица 15. Доля лиц в группе базовой и комплексной терапии, достигших и не достигших клинически значимого снижения массы тела

			р, ТКФ
	БТ	БТ + Лираглутид	
Достигли снижения массы тела на 5% и более, n (%)	5 (25%)	14 (64%)	0,016
Не достигли подобного снижения, n (%)	15 (75%)	8 (36%)	

После поправки на время наблюдения и увеличение его срока до 4 месяцев в группе базовой терапии, число лиц с клинически значимым снижением массы увеличилось с 5 до 6 человек, однако статистически значимые различия с группой комплексной терапии сохранились (($p=0,037$, ТКФ), таблица 16).

Таблица 16. Доля лиц в группе базовой и комплексной терапии, достигших и не достигших клинически значимого снижения массы тела с поправкой на время наблюдения

	БТ*	БТ + Лираглутид	р, ТКФ
Достигли снижения массы тела на 5% и более, n (%)	6 (30 %)	14 (64%)	0,037
Не достигли подобного снижения, n (%)	14 (70%)	8 (36%)	

*Значение параметров после поправки на срок наблюдения

3.5 Поиск возможных предикторов клинически значимого снижения массы тела при комплексной терапии экзогенно-конституционального ожирения

С целью прогнозирования эффективности комплексной терапии ожирения с использованием лираглутида было выполнено сравнение исходных характеристик пациентов в группе респондеров (лица, снизившие массу тела на 5% и более) и нереспондеров. Для пациентов с клинически значимым снижением массы тела на комплексной терапии выявлена статистическая тенденция к исходно меньшим ее значениям ($p=0,019$, М-У). По другим исследуемым параметрам статистически значимых различий между группами выявлено не было (таблица 17).

Таблица 17. Сравнение исходных клинико-лабораторных параметров у пациентов с и без клинически значимого снижения массы тела в группе комплексного лечения ожирения (БТ + лираглутид)

Исходные уровни показателей	Эффективность достигнута (n=14)	Эффективность не достигнута (n=8)	p**, тест Манна-Уитни
Возраст, годы	38,50 [35,00; 50,00]*	41,50 [37,5; 47]	0,682
Масса тела, кг	100,50 [86,00; 112,00]	127,25 [103,20; 138,50]	0,019
ИМТ, кг/м ²	35,61 [31,69; 42,79]	39,16 [37,89; 43,58]	0,082
ОТ, см	104,50 [100,00; 113,00]	117,75 [107,50; 130,25]	0,065
Грелин, фмоль/мл	4,89 [2,87; 7,80]	7,37 [4,40; 9,88]	0,133
Обестатин, нг/мл	1,99 [1,69; 2,30]	1,82 [1,74; 2,18]	0,885
ГПП-1, нг/мл	3,98 [3,09; 4,47]	4,32 [2,53; 5,86]	0,962
Лептин, нг/мл	61,04 [21,99; 111,84]	66,49 [54,98; 105,33]	0,707

Глюкоза, ммоль/л	5,36 [5,20; 5,60]	5,54 [5,19; 5,99]	0,394
Инсулин, мкЕ/мл	16,85 [12,00; 20,88]	19,79 [13,48; 29,16]	0,517
НОМА-IR	3,79 [2,78; 5,14]	4,97 [3,19; 7,39]	0,433
HbA1c, %	5,35 [5,20; 5,70]	5,50 [5,25; 5,85]	0,682
Ограничительный тип ПП, баллы	3,30 [2,00; 3,70]	3,15 [2,40; 3,40]	0,965
Эмоциогенный тип ПП, баллы	3,77 [2,15; 4,15]	3,31 [1,31; 4,23]	0,629
Экстернальный тип ПП, баллы	3,10 [2,70; 3,90]	3,25 [2,40; 3,50]	0,539

* Me [Q1; Q3]

** Пороговый $P_0=0,003$ (после применения поправки Бонферрони)

Также был проведен анализ и сравнение исходных характеристик респондеров и нереспондеров в группе базовой терапии. Выявлена статистическая тенденция к исходно более низкому уровню грелина натощак у пациентов, снизивших массу на 5% и более за 3 месяца модификации образа жизни ($p=0,029$, М-У). Статистически значимых различий по другим исследуемым параметрам между группами не отмечено (таблица 18).

Таблица 18. Сравнение исходных клинико-лабораторных параметров у пациентов с и без клинически значимого снижения массы тела в группе базовой терапии

Исходные уровни показателей	Эффективность достигнута (n=5)	Эффективность не достигнута (n=15)	p^{**} , тест Манна-Уитни
Возраст, годы	44,00 [39,00; 50,00]*	38,00 [30,00; 47,00]	0,631
Масса тела, кг	91,00 [86,50; 139,00]	104,00 [91,50; 110,00]	0,930
ИМТ, кг/м ²	33,43 [33,37; 38,10]	35,98 [33,26; 38,57]	1,000
ОТ, см	105,50 [101,00; 125,00]	108,00 [98,50; 117]	0,896

Грелин, фмоль/мл	4,12 [3,27; 4,25]	7,25 [4,49; 13,93]	0,029
Обестатин, нг/мл	3,11 [2,83; 4,60]	2,83 [1,74; 3,49]	0,295
ГПП-1, нг/мл	8,04 [3,48; 17,29]	3,21 [2,59; 4,27]	0,074
Лептин, нг/мл	42,75 [40,28; 67,74]	41,14 [28,71; 82,74]	0,861
Глюкоза, ммоль/л	5,47 [5,19; 5,90]	5,12 [4,79; 5,40]	0,097
Инсулин, мкЕ/мл	16,51 [14,79; 21,00]	14,50 [10,51; 18,12]	0,547
НОМА-IR	4,01 [3,41; 6,07]	3,12 [2,42; 4,30]	0,287
HbA1c, %	5,65 [5,30; 5,95]	5,50 [5,30; 5,70]	0,821
Ограничительный тип ПП, баллы	3,20 [3,00; 3,30]	3,05 [2,40; 3,44]	0,711
Эмоциогенный тип ПП, баллы	2,54 [2,00; 3,77]	2,46 [2,00; 3,15]	0,781
Экстернальный тип ПП, баллы	2,90 [2,70; 3,00]	3,30 [2,70; 3,70]	0,431

* Me [Q1; Q3]

** Пороговый $P_0=0,003$ (после применения поправки Бонферрони)

Учитывая, что в ряде случаев не изолированный показатель, а комбинация исходных характеристик, может предсказывать вероятность события, был проведен дополнительный статистический анализ. Поскольку исследование имело ограниченное число наблюдений, многофакторный анализ не использовался. Был применен метод логистической регрессии с построением математической модели для прогнозирования вероятности эффективности комплексной терапии (БТ + лираглутид) при ожирении через 16 недель применения. В качестве первоначального набора предикторов использовались исходная масса тела, поскольку ранее была отмечена статистическая тенденция к большей эффективности комплексной терапии у пациентов с более низкой массой тела до ее начала, а также исходные уровни эндогенных пептидных биорегуляторов. При расчете площадей под характеристическими кривыми (AUC) наилучший показатель был получен для комбинации исходной массы тела с уровнем активного грелина плазмы натощак (AUC – 0,893, 95% ДИ [0,708-0,989]) (таблица 19).

Таблица 19. Сравнение площадей под характеристическими кривыми для комбинаций исходной массы тела и уровней эндогенных пептидных биорегуляторов пищевого поведения в группе комплексной терапии (БТ + лираглутид, n=22)

	AUC	95% ДИ
Исходная масса тела (кг) и уровень грелина плазмы (фмоль/мл)	0,893	0,708-0,989
Исходная масса тела (кг) и уровень обестатина плазмы (нг/мл)	0,778	0,546-0,922
Исходная масса тела (кг) и уровень ГПП-1 плазмы (нг/мл)	0,764	0,546-0,991
Исходная масса тела и уровень лептина сыворотки (нг/мл)	0,813	0,597-0,948

Таким образом, в итоговую математическую модель были включены такие исходные характеристики пациентов, как уровень грелина плазмы натощак и масса тела. Логит-регрессионная модель вероятности клинически значимого снижения массы тела при использовании комплексной терапии ожирения представлена в таблице 20.

Таблица 20. Параметры логит-регрессионной модели для расчета вероятности эффективности комплексного лечения ожирения спустя 3 месяца применения

Исследуемая переменная	Коэффициент регрессии β	Стандартная ошибка	Критерий Вальда χ^2	P
Исходный вес, кг	0,1071	0,047915	4,995457	0,025
Уровень грелина, фмоль/мл	0,4391	0,269860	2,647479	0,104
Константа	-15,4537	6,749702	5,242000	0,022

Вероятность эффективности комбинированной терапии через 3 месяца применения может быть рассчитана по формуле:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(-15.4537 + 0.1071 \cdot A + 0.4391 \cdot B)}}$$

где: p – вероятность 0 исхода (нет эффективности), A – исходный вес в кг, B – исходный уровень грелина в фмоль/мл. Вероятность эффективности лечения рассчитана как $1 - p$, для удобства представлена в процентах. Приведенные коэффициенты получены при использовании логит-регрессионной модели (см. табл. 20). Данная модель реализована в виде калькулятора в MS Excel (рисунок 7).

	A	B	C	D
1	Введите информацию о пациенте:			
2	Исходная масса тела (кг)			
3	Исходный уровень грелина (фмоль/мл)			
6	Вероятность эффективности* комбинированной терапии**			
7	* - Точка отсечения 50%			
8	** - модификация образа жизни + лираглутид 3.0 мг в течение 3 месяцев			
9				

Рисунок 7. Калькулятор для расчета вероятности эффективности комплексной терапии ожирения (модификация образа жизни + лираглутид 3,0 мг) спустя 3 месяца применения

Калькулятор доступен для применения по электронной ссылке https://yadi.sk/i/ycVPIhLK4n_mKQ. Качество модели согласно критерию Хосмера-Лемешова (3,987; $p=0,858$) хорошее. Матрица классификации представлена в таблице 21.

Таблица 21. Матрица классификации логит-регрессионной модели прогнозирования эффективности комплексного лечения ожирения спустя 3 месяца применения

		Наблюдаемый исход	
		Эффективен (n=14)	Не эффективен (n=8)
Прогнозируемый исход	Эффективен (n=15)	12	3
	Неэффективен (n=7)	2	5
Корректно классифицированных, %		86	63
Ложноотрицательных предсказаний		2	
Ложноположительных предсказаний		3	

Чувствительность модели, 95% ДИ, рассчитанная по матрице классификации, составила 86% [65%; 97%], специфичность – 63% [41%; 83%], прогностическая ценность положительного результата – 80% [60%; 95%], прогностическая ценность отрицательного результата – 71% [49%; 89%].

Указанная модель имеет статистически значимые чувствительность (то есть хорошо определяет пациентов, у которых будет отмечаться клинически значимое снижение массы тела спустя 3 месяца комплексной терапии) и прогностическую ценность положительного результата (при прогнозировании эффективности лечения, она с большой вероятностью будет реализована). Поскольку для практического использования математической модели более важными являются показатели прогностической ценности, основным результатом необходимо считать таковую для положительного результата.

3.6 Клинические случаи

Ниже приведены клинические случаи, иллюстрирующие работоспособность онлайн-калькулятора для прогнозирования эффективности комплексного лечения ожирения с использованием лираглутида.

Клинический случай №1

Пациентка Н., 47 лет обратилась в НМИЦ эндокринологии с жалобами на избыточную массу тела. Увеличение ИМТ имело медленный прогрессирующий характер в течение последних 10 лет. Самостоятельные попытки похудения, в целом, не давали значимого результата. Около 2 лет назад под наблюдением диетолога на фоне коррекции рациона питания и интенсификации физической активности, снижение массы тела на 10% от исходных значений за 6 месяцев. Далее наблюдался постепенный обратный набор веса при возвращении к привычному стилю питания.

При осмотре масса тела – 86,0 кг, ИМТ – 33,2 кг/м² (ожирение I степени), окружность талии – 104,0 см, АД – 130/80 мм рт. ст., пульс ритмичный с частотой 76 ударов в минуту. В рамках дифференциальной диагностики были исключены вторичные причины ожирения. По данным лабораторного обследования выявлена дислипидемия, нарушений углеводного, пуринового обмена, повышения уровня печеночных трансаминаз не установлено. Согласно опроснику DEBQ имелись признаки нарушений пищевого поведения по всем 3 типам (ограничительное, эмоциогенное, экстернальное). После анализа дневника питания и характера физической активности, пациентке были даны рекомендации по модификации образа жизни, а также назначена терапия лираглутидом в виде подкожных инъекций, начиная с 0,6 мг 1 раз в сутки с последующей постепенной эскалацией дозы до 3,0 мг согласно инструкции препарата. На дозировке 1,2 мг отметила тошноту, которая была транзиторной и прекратилась самостоятельно через несколько дней.

Через 3 месяца комплексной терапии (БТ + лираглутид 3,0 мг в сутки) общее снижение массы тела достигло 10,5 кг (12%), ИМТ составлял 29,1 кг/м², окружность талии – 90,0 см, наблюдалось снижение выраженности эмоциогенного и экстернального ПП и некоторое увеличение суммы баллов по шкале ограничительного ПП. При прогнозировании эффективности комплексной терапии ожирения с помощью предлагаемого онлайн-калькулятора, с учетом исходной

массы тела и уровня грелина плазмы вероятность клинически значимого снижения массы тела составила 100% (рисунок 8).

	A	B	C	D
1	Введите информацию о пациенте:			
2	Исходная масса тела (кг)	86,00		
3	Исходный уровень грелина (фмоль/мл)	1,678		
6	Вероятность эффективности* комбинированной терапии**	100%	Эффективен *	
7	* - Точка отсечения 50%			
8	** - модификация образа жизни + лираглутид 3.0 мг в течение 3 месяцев			
9				

Рисунок 8. Расчет вероятности эффективности комплексной терапии ожирения спустя 3 месяца применения для пациентки Н.

Клинический случай №2

Пациентка С., 38 лет обратилась в НМИЦ эндокринологии с жалобами на избыточный вес. Постепенное увеличение массы тела отметила 12 лет назад через 6 месяцев после родов. 5 лет назад под наблюдением эндокринолога на фоне коррекции рациона питания и физической активности снижение массы тела на 5% за 3 месяца, далее к терапии был добавлен ингибитор желудочно-кишечных липаз, который принимала в течение 1 месяца. Прием препарата был прекращен в связи с выраженными побочными эффектами со стороны ЖКТ (диарея, метеоризм). В течение последующего года - постепенное возвращение веса к исходному значению.

При осмотре масса тела – 99,0 кг, ИМТ – 32,4 кг/м² (ожирение I степени), окружность талии – 99,0 см, АД – 115/70 мм рт. ст., пульс ритмичный с частотой 80 ударов в минуту. В рамках дифференциальной диагностики были исключены вторичные причины ожирения. По данным лабораторного обследования выявлена дислипидемия, нарушений углеводного, пуринового обмена, повышения уровня печеночных трансаминаз не установлено. Согласно опроснику DEBQ имелись

признаки нарушений пищевого поведения по 3 типам. После анализа дневника питания и характера физической активности, пациентке были даны рекомендации по модификации образа жизни, а также назначена терапия лираглутидом в виде подкожных инъекций, начиная с 0,6 мг 1 раз в сутки с последующей постепенной эскалацией дозы до 3,0 мг согласно инструкции препарата. В течение первого месяца терапии отмечала метеоризм, выраженность которого впоследствии значительно уменьшилась на фоне коррекции рациона питания.

Через 3 месяца комплексной терапии (БТ + лираглутид 3,0 мг в сутки) общее снижение массы тела достигло 4,0 кг (4%), ИМТ составлял 31,1 кг/м², окружность талии – 97,0 см, отмечено снижение выраженности эмоциогенного ПП и увеличение суммы баллов по шкале ограничительного ПП. При прогнозировании эффективности комплексной терапии ожирения с помощью предлагаемого онлайн-калькулятора, с учетом исходной массы тела и уровня грелина плазмы вероятность клинически значимого снижения массы тела составила 48% - меньше точки отсечения (рисунок 9).

	A	B	C	D
1	Введите информацию о пациенте:			
2	Исходная масса тела (кг)	99,00		
3	Исходный уровень грелина (фмоль/мл)	11,274		
6	Вероятность эффективности* комбинированной терапии**	48%	Неэффективен *	
7	* - Точка отсечения 50%			
8	** - модификация образа жизни + лираглутид 3.0 мг в течение 3 месяцев			
9				

Рисунок 9. Расчет вероятности эффективности комплексной терапии ожирения спустя 3 месяца применения для пациентки С.

Таким образом, указанный калькулятор может быть хорошим способом прогнозирования эффективности комплексной терапии ожирения с использованием агониста рецепторов ГПП-1 лираглутида.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Признание ожирения заболеванием и усилия, предпринимаемые врачебным сообществом по снижению его распространенности, в первую очередь, обусловлены борьбой с развитием и коррекцией уже имеющихся осложнений и коморбидных состояний: именно в них кроется причина снижения качества и продолжительности жизни, повышения смертности от сердечно-сосудистых, онкологических и других заболеваний в данной популяции пациентов, репродуктивные и экономические потери [23].

В нашем исследовании частота и выраженность таких метаболических нарушений, как дислипидемия, гиперурикемия, а также число лиц с повышенным значением косвенного маркера инсулинорезистентности индекса HOMA-IR были статистически значимо выше в группе пациентов с ожирением по сравнению со здоровыми лицами, что еще раз подтверждает взаимосвязь данных состояний с величиной ИМТ [28, 49]

Большой вклад в развитие ожирения вносят нарушения пищевого поведения [2]. Одним из наиболее применяемых и простых в использовании является опросник DEBQ, позволяющий выявить признаки ограничительного, эмоциогенного и экстернального типов нарушения пищевого поведения. В нашем исследовании большинство участников с ожирением имели признаки нарушений ПП, при этом наибольшую выраженность и встречаемость в данной группе имел эмоциогенный тип. Статистически значимые различия между лицами с ожирением и здоровыми добровольцами были выявлены по доле таковых без нарушений ПП и по частоте эмоциогенного ПП. Таким образом, участники с ожирением более подвержены потреблению пищи вследствие эмоционального дискомфорта и заеданию негативных эмоций. Результаты нашего исследования согласуются с данными ранее проведенных отечественных исследований [1, 3]. Среди обследуемых с ожирением у 71% выявлялись признаки ограничительного, а у 68% - экстернального ПП. Обращает на себя внимание, что в группе здорового контроля больше половины лиц сообщали о признаках ограничительного и экстернального

ПП: 58% и 65% соответственно. Однако по данным ряда исследований среди лиц молодого возраста с ИМТ в пределах нормы часто определяются завышенные показатели, особенно по шкале ограничительного и эмоциогенного ПП, что, наиболее вероятно, обусловлено влиянием современных медиа и социума [103, 125].

При анализе особенностей секреции эндогенных пептидных биорегуляторов пищевого поведения нами было установлено, что пациенты с $ИМТ \geq 30$ имеют более высокие значения лептина сыворотки и более низкие - грелина плазмы крови (в обоих случаях $p < 0,001$, М-У) при сравнении со здоровыми лицами, что согласуется с данными большинства отечественных и зарубежных научных исследований [9, 35, 45, 122]. Учитывая, что определение уровня грелина на текущий момент производится только в научных целях, не существует референсных интервалов для интерпретации выявленных значений. В этой связи нами была рассчитана отрезная точка для уровня грелина, составившая 9,774 фмоль/мл и позволяющая дифференцировать пациентов с ожирением и без него с чувствительностью 83,3% (95% ДИ: 69,4-91,7) и специфичностью 80,0% (95% ДИ: 65,2-89,5).

Уровень обестатина плазмы был статистически значимо ниже среди пациентов с ожирением ($p < 0,001$, М-У). Полученные нами результаты отличаются от данных V. Vicennati, согласно которым уровень обестатина имел более низкие значения у здоровых лиц, однако, указанная работа включала только женщин [124]. В то же время наши данные о секреции обестатина совпадают с 9 ранее выполненными исследованиями, включенными в метаанализ N. Zhang и соавторов [138].

По аналогии с грелином, нами было рассчитано значение отрезной точки для уровня обестатина. Значение равное 3,157 нг/мл позволяет дифференцировать пациентов с ожирением и без него с 81,1% чувствительностью (95% ДИ: 65,8-90,5) и 77,5% специфичностью (95% ДИ: 62,5-87,7).

Дизайн текущей работы включал оценку только базального уровня ГПП-1. Согласно полученным результатам, статистически значимых различий между лицами с ожирением и без него не выявлено ($p = 0,31$, М-У). Стоит отметить, что

92,9% участников с ожирением не имели нарушений углеводного обмена, а оставшиеся 7,1% имели впервые выявленную нарушенную гликемию натощак, в связи с чем, у них не было отмечено снижения уровня ГПП-1, характерного для лиц с сахарным диабетом 2 типа [12].

При оценке уровней эндогенных пептидных биорегуляторов до и через 3 месяца после проводимого лечения было отмечено статистически значимое снижение уровня лептина в группе комбинации модификации образа жизни с лираглутидом ($p=0,006$, тест Вилкоксона), при этом подобных изменений в группе базовой терапии не выявлено ($p=0,191$, тест Вилкоксона). При сравнении динамики уровня лептина (значение параметра $_{\text{после}} - \text{значение параметра}_{\text{до лечения}}$) отмечены существенные различия между указанными группами ($p=0,008$, М-У). Разница в динамике лептина может быть обусловлена более выраженным снижением массы тела в группе комбинированной терапии ($p<0,001$, М-У). В то же время, при проведении корреляционного анализа статистически значимой взаимосвязи между динамикой массы тела и динамикой уровня лептина в группе комбинированной терапии не выявлено, что может свидетельствовать о независимом от снижения веса воздействии лираглутида на чувствительность к лептину (то есть коррекцию им лептинорезистентности), с одной стороны, либо о недостаточном размере выборки для доказательства подобной корреляции, с другой. В этой связи, для уточнения механизмов воздействия лираглутида на секрецию лептина, необходимо исследование с большим числом лиц и группой сравнения, где снижение массы тела вследствие модификации образа жизни будет сопоставимым с таковым в группе комбинированной терапии. Дополнительные данные также может привести оценка концентрации растворимого рецептора лептина и индекса свободного лептина.

Статистически значимой динамики в уровне грелина, обестатина и ГПП-1, внутри каждой из групп, а также при их сравнении между собой нами не отмечено ($p>0,05$, тест Вилкоксона и М-У). Результаты об отсутствии существенной динамики базальных уровней грелина и ГПП-1 на фоне терапии агонистами ГПП-

1 были также отражены в публикации Е.В. Тихоненко и соавторов, уровень обесстатина в указанной работе не исследовался [10].

При оценке динамики выраженности нарушений пищевого поведения по шкалам ограничительного, эмоциогенного и экстернального типов опросника DEBQ статистически значимых различий внутри каждой из групп, а также при их сравнении между собой нами не найдено. ($p > 0,05$, тест Вилкоксона и М-У).

В нашем исследовании статистически значимое снижение массы тела было достигнуто в обеих группах (во всех случаях $p < 0,007$, тест Вилкоксона). Однако клинически значимого снижения массы тела достигли лишь 25% лиц в группе базовой и 64% лиц в группе комбинированной терапии ($p = 0,016$, ТКФ). Особенностью нашего исследования явилось некоторое различие сроков наблюдения в сравниваемых группах: модификация образа жизни (базовая терапия) осуществлялась в течение 3 месяцев, в то время как в группе комбинированной терапии (БТ + лираглутид) общий период лечения составил 4 месяца (16 недель). Это связано с тем, что в первый месяц лечения лираглутидом происходит постепенная эскалация дозы до терапевтической – 3,0 мг в сутки: именно она зарегистрирована для лечения ожирения, в связи с чем оценка снижения массы тела согласно инструкции препарата и клиническим рекомендациям по лечению ожирения должна производиться спустя 3 месяца применения в данной дозировке. В то же время в период увеличения суточной дозы с 0,6 до 3,0 мг, у части пациентов может отмечаться некоторое снижение массы тела. В этой связи, для пациентов из группы БТ величина динамических изменений массы тела была проанализирована как в исходном виде, так и со смоделированным увеличением срока наблюдения на 1 месяц. Однако снижение веса было статистически значимо большим в группе комплексного лечения, как до ($p < 0,001$, М-У), так и после поправки на время наблюдения ($p = 0,005$, М-У), см. таблицу 14), как и число лиц с клинически значимым снижением массы тела ($p = 0,016$ и $0,037$ соответственно, ТКФ), см. таблицы 15 и 16).

Важной задачей нашего исследования являлся поиск возможных предикторов клинически значимого снижения массы тела при комплексной

терапии ожирения, ее актуальность связана как с необходимостью персонализации подходов к терапии, так и с высокой стоимостью лечения ожирения агонистами рецепторов ГПП-1. Согласно полученным нами результатам пол, возраст, исходные параметры углеводного обмена не являлись прогностическими факторами относительно вес-снижающих эффектов комбинированной терапии, что совпадает с данными K. Fujioka, но отличается от данных S. Wharton и соавторов, согласно которым, чем выше возраст пациента, тем выше вероятность снижения массы тела на 5% и более в течение 6 месяцев. [52, 130]

На текущий момент роль эндогенных пептидных биорегуляторов и характеристик пищевого поведения в прогнозировании эффективности раннего ответа на терапию агонистами рецепторов ГПП-1 не установлена, но активно изучается. По нашим данным исходные уровни лептина, грелина, обестатина и ГПП-1, а также характеристики пищевого поведения пациента по опроснику DEBQ не могут использоваться в качестве изолированных предикторов клинически значимого снижения массы тела при комплексной терапии первичного ожирения. Указанные результаты отличаются от таковых, полученных de Boer, где наибольшее снижение массы тела было отмечено в группе пациентов с ограничительным ПП, а также от данных Е.В. Тихоненко, где предиктором эффективности являлся исходно низкий уровень ГПП-1 плазмы, оцениваемый в состоянии натощак. [10, 39] Однако стоит отметить, что в указанные исследования были включены пациенты с сахарным диабетом 2 типа, получающие лираглутид в дозировке 1,2 или 1,8 мг либо эксенатид 20 мкг, тогда как в нашей работе СД 2 являлся критерием исключения, а также использовался только лираглутид в суточной дозе 3,0 мг.

С целью прогнозирования эффективности лечения, нами был проведен дополнительный статистический анализ и создана математическая модель, реализованная в виде онлайн-калькулятора, включающая исходные массу тела и уровень грелина плазмы пациента. Указанная модель имеет статистически значимые чувствительность – 86% и прогностическую ценность положительного результата – 80% и может быть рекомендована для применения в рутинной

практике врача как удобный инструмент для расчета вероятности эффективности комплексной терапии экзогенно-конституционального ожирения с использованием агониста рецепторов ГПП-1 лираглутида.

ОГРАНИЧЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Недостатком нашего исследования явилось различие в возрасте сравниваемых групп пациентов, а именно, более молодой возраст группы здоровых добровольцев. Это обусловлено необходимостью минимизировать в данной группе количество участников, имеющих хронические заболевания и принимающих по их поводу лекарственные препараты (соответственно, и их влияние на уровень лабораторных параметров), а также особенностями учреждения, в котором проводился набор пациентов.

Также в исследовании принимали участие только пациенты европеоидной расы, поэтому наши выводы не могут быть применимы к другим группам населения.

Кроме того, по техническим причинам определение уровней пептидных регуляторов проводилось ретроспективно, в связи с чем разделение, например, группы базовой терапии до начала вмешательства на пациентов с исходным уровнем грелина выше и ниже отрезной точки не являлось возможным.

Таким образом, полученные нами данные открывают возможность продолжить указанное направление исследований с большим размером выборки для подтверждения полученных результатов и выявления других возможных предикторов клинически значимого снижения массы тела при комплексной терапии экзогенно-конституционального ожирения с использованием лираглутида, что позволит усовершенствовать алгоритмы лечения данного заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Неудовлетворительные отдаленные результаты лечения экзогенно-конституционального ожирения, обусловлены сложностью патофизиологических механизмов, лежащих в основе его развития, а также трудностями со стороны пациента в долгосрочной модификации состава и режима питания. Рикошетное увеличение массы тела в том числе связано с возникающими на фоне снижения веса изменениями в уровнях эндогенных биорегуляторов пищевого поведения, секретируемых желудочно-кишечным трактом и жировой тканью, а также изменениями продукции нейромедиаторов в ядрах гипоталамуса, вовлеченных в контроль аппетита.

В рамках проведенной научной работы было подтверждено, что имеются различия в базальной секреции таких эндогенных пептидных биорегуляторов пищевого поведения, как лептин, грелин и обестатин у пациентов с ожирением и здоровых лиц. Кроме того, было установлено, что большинство пациентов с ожирением имеют нарушения пищевого поведения, а значит, рекомендации по модификации образа жизни должны подкрепляться дополнительными методами для облегчения адаптации к скорректированному рациону питания и достижения долгосрочных результатов. Помимо когнитивно-поведенческой психотерапии, оправданным является применение лекарственных средств.

Признание ожирения хроническим заболеванием, позволило фармакотерапии стать обоснованным компонентом его лечения. Понимание механизмов, лежащих в основе регуляции пищевого поведения и снижения массы тела, позволит усовершенствовать тактику вмешательства, а также создать препараты таргетного действия. На текущий момент выбор препаратов для снижения массы тела ограничен. Кроме того, решение в пользу того или иного средства часто определяется исключительно наличием/отсутствием противопоказаний к его назначению и личным мнением клинициста в отношении представителей различных групп, при этом алгоритм, позволяющий

персонализировать лечение и прогнозировать эффективность назначаемого лекарственного препарата, в настоящее время отсутствует.

Полученные нами данные свидетельствуют, что пол и возраст пациента, исходные масса тела, ИМТ, значение окружности талии, уровни глюкозы и гликированного гемоглобина, инсулина, индекса НОМА-IR, уровни грелина, обестатина, лептина и глюкагоноподобного пептида-1 в периферической крови, а также характеристики пищевого поведения по опроснику DEBQ не являются изолированными предикторами эффективности комплексной терапии ожирения, включающей агонист рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 лираглутид в дозе 3,0 мг. В то же время, математическая модель, включающая комбинацию исходной массы тела пациента и уровня грелина плазмы натощак и реализованная в виде онлайн-калькулятора, позволяет спрогнозировать вероятность клинически значимого снижения массы тела (на 5% и более) для минимально оптимального срока фармакотерапии (3 месяца) с хорошими показателями чувствительности и прогностической ценности положительного результата, что предлагается использовать на практике с целью персонализации подходов к фармакотерапии ожирения.

Для уточнения полученных результатов, целесообразным является продолжение исследования с большим объемом выборки. Кроме того, проведенная работа включает изучение предикторов эффективности только для агониста рецепторов ГПП-1 лираглутида, в связи с чем, интересной перспективой является поиск возможных прогностических факторов вес-снижающего эффекта для других используемых препаратов.

ВЫВОДЫ

1. Уровень лептина выше, уровень грелина и обестатина ниже, а базальная секреция глюкагоноподобного пептида-1 не различается у пациентов с экзогенно-конституциональным ожирением и здоровых лиц.
2. Большинство пациентов с ожирением имеют признаки нарушений пищевого поведения по ограничительному, эмоциогенному и/или экстернальному типу, при этом 25% здоровых лиц не имеют указанных признаков. Частота эмоциогенного типа нарушения пищевого поведения выше среди лиц с ожирением.
3. Комплексная терапия экзогенно-конституционального ожирения с использованием агониста рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 лираглутида способствует снижению уровня лептина, при этом не оказывая существенного влияния на базальные уровни грелина, обестатина и глюкагоноподобного пептида-1.
4. Три месяца базовой и/или комплексной терапии ожирения, включающей лираглутид, не приводят к значимому изменению выраженности экстернального, эмоциогенного и/или ограничительного пищевого поведения.
5. Исходные уровни лептина, грелина, обестатина и глюкагоноподобного пептида-1, а также характеристики пищевого поведения пациента по голландскому опроснику не могут использоваться в качестве изолированных предикторов клинически значимого снижения массы тела при комплексной терапии первичного ожирения с использованием лираглутида.
6. Математическая модель, включающая комбинацию исходной массы тела и уровня активного грелина плазмы пациента, прогнозирует вероятность эффективности комплексной терапии ожирения с использованием агониста рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 лираглутида 3,0 мг с прогностической ценностью положительного результата 80% [60%; 95%] и чувствительностью 86% [65%; 97%].

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Комплексная терапия экзогенно-конституционального ожирения (модификация образа жизни + лираглутид) может быть рекомендована независимо от исходно выявляемых по голландскому опроснику характеристик нарушений пищевого поведения.
2. При решении вопроса об инициации терапии ожирения лираглутидом, в лабораторное обследование может быть включено определение уровня активного грелина плазмы натощак, который стоит учитывать как прогностический фактор эффективности лечения в сочетании с исходной массой тела пациента.
3. При планировании добавления к базовой терапии экзогенно-конституционального ожирения агониста рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 лираглутида, рекомендован расчет вероятности клинически значимого снижения массы тела с помощью предлагаемой математической модели, реализованной в форме онлайн-калькулятора, с целью оптимизации тактики лечения и достижения его максимального эффекта.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АД - артериальное давление

АЛТ - аланинаминотрансфераза

АПБ - агути-подобный белок

АСТ - аспаратаминотрансфераза

БТ - базовая терапия/группа пациентов с базовой терапией

ГАМК - гамма-аминомасляная кислота

ГЭБ - гематоэнцефалический барьер

ГПП-1 - глюкагоноподобный пептид-1

ГПП-1p – рецептор глюкагоноподобного пептида-1

ДИ - доверительный интервал

ДПП-4 - дипептидилпептидаза-4

ЖКТ - желудочно-кишечный тракт

ИМТ - индекс массы тела

ИФА (ELISA) - иммуноферментный анализ

КАРТ - кокаин-амфетамин-регулируемый транскрипт

КСп - коэффициент ранговой корреляции Спирмена

М-У - U-критерий Манна-Уитни

МРЦЖ - медуллярный рак щитовидной железы

ОТ - окружность талии

ОХС - общий холестерин сыворотки

ПГТТ - пероральный глюкозотолерантный тест

ПП - пищевое поведение

ПОМК - проопиомеланокортин

РКИ - рандомизированное клиническое исследование

СД 2 - сахарный диабет 2 типа

СКО - среднее квадратическое отклонение

ТГ - триглицериды

ТКФ - точный критерий Фишера

хЛПНП - холестерин липопротеидов низкой плотности

хЛПВП - холестерин липопротеидов высокой плотности

AUC - area under ROC curve – площадь под кривой операционной характеристики

CRF - corticotropin-releasing factor – кортикотропин-рилизинг-фактор

DEBQ (the Dutch Eating Behavior Questionnaire) - голландский опросник пищевого поведения

GHSR - рецептор секретогонов гормона роста

GOAT - грелин O-ацилтрансфераза

HbA1c - гликированный гемоглобин

HOMA-IR - Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance - гомеостатическая модель оценки инсулинорезистентности

Me - медиана

NPY - нейропептид Y

ROC-анализ - анализ характеристических кривых

RYGB - лапароскопическое шунтирование желудка

Q1, Q3 - интерквартильные интервалы

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вахмистров А.В. Клинико-психологический анализ различных форм эмоциогенного пищевого поведения // Альманах клинической медицины. - 2001. - № 4. – С.127-130/
2. Вознесенская Т.Г., Вахмистров А.В. Клинико-психологический анализ нарушений пищевого поведения при ожирении // Неврол. и психиатр. – 2001/ -12/ - С. 49–52.
3. Волкова Г.Е., Романцова Т.И., Вознесенская Т.Г., Роик О.В. Пищевое поведение у пациентов с ожирением // Ожирение и метаболизм. - 2007. - Т. 4. - № 2. - С. 17-21.
4. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Шестакова М.В., и др. Лечение морбидного ожирения у взрослых // Ожирение и метаболизм. - 2018. - Т.15. - № 1. - С. 53-70. doi:10.14341/ОМЕТ2018153-70.
5. Генов П.Г., Тимербаев В.Х., Долгашева Н.С., и др. Прогностические модели выраженности острой динамической боли в первые сутки после операции и вероятности возникновения хронической послеоперационной боли в хирургии позвоночника // Вопросы нейрохирургии. - 2018. - Т.82. - №3. – с. 29-35. doi.org/10.17116/neiro201882329/
6. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. - М.: Медиа Сфера, 2003. – 312 с.
7. Романцова Т.И. Аналог глюкагоноподобного пептида-1 лираглутид (Саксенда®): механизм действия, эффективность в лечении ожирения // Ожирение и метаболизм. - 2018. - Т.15. - № 1. - С.3-11. doi: 10.14341/ОМЕТ201813-11.
8. Российские клинические рекомендации. Эндокринология // Под ред. акад. РАН И.И. Дедова, акад. РАН Г.А. Мельниченко. - М.: Издательская группа «Гэотар - Медиа», 2016.

9. Савельева Л.В. Эффективность терапевтического обучения больных в комплексном лечении ожирения [Электронный ресурс]: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук: 14.00.03 / Савельева Лариса Викторовна. - М., 2004. – 24 с. – Доступно: <https://www.dissercat.com/content/effektivnost-terapevticheskogo-obucheniya-bolnykh-v-kompleksnom-lechenii-ozhireniya>. Ссылка активна на 26.01.2020.
10. Тихоненко Е.В., Бабенко А.Ю., Шляхто Е.В. Предикторы эффективности терапии агонистами рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и ожирением // Ожирение и метаболизм. - 2018. - Т.15. - № 4. - С. 22-30. doi: 10.14341/OMET9584.
11. Трошина Е.А., Ершова Е.В. Фармакотерапия ожирения: что нового? // Проблемы эндокринологии. 2018. - Т. 64. - № 4. – С. 270-276. doi: 10.14341/probl9315/
12. Шестакова Е.А. Изучение факторов, влияющих на секрецию инкретинов, у лиц с различными нарушениями углеводного обмена [Текст]: Дис. ... канд. мед. наук: 14.01.02 / Е.А. Шестакова. – М., 2014. - 103с. Доступно: https://www.endocrinentr.ru/sites/default/files/specialists/science/dissertation/1dissirt_westek_0.pdf . Ссылка доступна на 26.01.2020.
13. Adam TC, Westerterp-Plantenga MS. Glucagon-like peptide-1 release and satiety after a nutrient challenge in normal-weight and obese subjects // Br J Nutr. 2005; 93: 845-851.
14. Alloatti G, Arnoletti E, Bassino E, et al. Obestatin affords cardioprotection to the ischemic-reperfused isolated rat heart and inhibits apoptosis in cultures of similarly stressed cardiomyocytes // Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2010; 299: H470–H481.
15. Al Massadi O, Lopez M, Tschöp M, et al. Current understanding of the hypothalamic ghrelin pathways inducing appetite and adiposity // Trends Neurosci. 2017; 40(3): 167–180. doi:10.1016/j.tins.2016.12.003.

16. Anini Y, Brubaker PL. Role of leptin in the regulation of glucagonlike peptide-1 secretion // *Diabetes*. 2003; 52: 252–259.
17. Ata SM, Vaishnav U, Puglisi M, et al. Macronutrient composition and increased physical activity modulate plasma adipokines and appetite hormones during a weight loss intervention // *J Womens Health*. 2010; 19: 139-145.
18. Baggio LL, Drucker DJ. Biology of Incretins: GLP-1 and GIP // *Gastroenterology*. 2007; 132: 2131–2157. doi: 10.1053/j.gastro.2007.03.054.
19. Banks WA, Farrell CL. Impaired transport of leptin across the blood–brain barrier in obesity is acquired and reversible // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*. 2003; 285: E10–E15.
20. Banks WA. Leptin transport across the blood–brain barrier: implications for the cause and treatment of obesity // *Curr. Pharm. Des*. 2001; 7: 125–133.
21. Baranowska-Bik A, Bik W, Styczynska M, et al. Plasma leptin levels and free leptin index in women with Alzheimer’s disease // *Neuropeptides*. 2015; 52: 73-78. doi: 10.1016/j.npep.2015.05.006.
22. Barrera JG, Jones KR, Herman JP, et al. Hyperphagia and increased fat accumulation in two models of chronic CNS glucagon-like peptide-1 loss of function // *J Neurosci*. 2011; 31: 3904 –3913.
23. Berrington de Gonzalez A, Hartge P, Cerhan JR, et al. Body-mass index and mortality among 1.46 million white adults // *New Engl J Med*. 2010; 363: 2211–2219. doi: 10.1056/NEJMoa1000367.
24. Bjerre Knudsen L, Madsen LW, Andersen S., et al. Glucagon-like Peptide-1 receptor agonists activate rodent thyroid C-cells causing calcitonin release and C-cell proliferation // *Endocrinology*. 2010; 151 (4): 1473-86. doi: 10.1210/en.2009-1272.
25. Blüher M, Hermansen K, Greenway F, et al. Early weight loss with liraglutide 3.0 mg is good predictor of clinically meaningful weight loss after 56 weeks. *Diabetologia* 2015;58(1):S310.

26. Boden G, Chen X, Mozzoli M, Ryan I. Effect of fasting on serum leptin in normal human subjects // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1996; 81: 3419–3423. doi: 10.1210/jcem.81.9.8784108.
27. Bowen J, Noakes M, Clifton PM. Appetite regulatory hormone responses to various dietary proteins differ by body mass index status despite similar reductions in ad libitum energy intake // *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91: 2913-2919.
28. Brixner D, Ghate SR, McAdam-Marx C, et al. Association between cardiometabolic risk factors and body mass index based on diagnosis and treatment codes in an electronic medical record database // *J Manag Care Pharm*. 2008; 14 (8): 756–67.
29. Brubaker PL. The glucagon-like peptides: pleiotropic regulators of nutrient homeostasis // *Ann N Y Acad Sci*. 2006; 1070:10–26.
30. Brunetti L, Leone S, Orlando G, et al. Effects of obestatin on feeding and body weight after standard or cafeteria diet in the rat // *Peptides*. 2009; 30: 1323–7.
31. Callaghan B, Furness JB. Novel and conventional receptors for ghrelin, desacylghrelin, and pharmacologically related compounds // *Pharmacol Rev*. 2014; 66: 984-1001.
32. Caro JF, Kolaczynski JW, Nyce MR, et al. Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance // *Lancet*. 1996; 348: 159–161.
33. Cizza G, Lotsikas AJ, Licinio J, et al. Plasma leptin levels do not change in patients with Cushing’s disease shortly after correction of hypercortisolism // *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 1997; 82: 2747–50.
34. Considine RV, Considine EL, Williams CJ, et al. Evidence against either a premature stop codon or the absence of obese gene mRNA in human obesity // *J Clin Invest*. 1995; 95: 2986-2988. doi: 10.1172/JCI118007.
35. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans // *N Engl J Med*. 1996; 334: 292–295. doi: 10.1056/NEJM199602013340503.

36. Cottrell EC, Mercer JG. Leptin receptors // *Appetite Control*, Ed H-G Joost. Berlin, Heidelberg: Springer, 2012. - p. 3–21. doi.org/10.1007/978-3-642-24716-3
37. Counterweight Project Team. Evaluation of the Counterweight Programme for obesity management in primary care: a starting point for continuous improvement // *Br J Gen Pract*. 2008; 58: 548–554.
38. Cummings DE, Clement K, Purnell JQ, et al. Elevated plasma ghrelin levels in prader willi syndrome // *Nat Med*. 2002; 8: 643-644. doi:10.1038/nm0702-643.
39. de Boer SA, Lefrandt JD, Petersen JF, et al. The effects of GLP-1 analogues in obese, insulin-using type 2 diabetes in relation to eating behavior // *Int J Clin Pharmacy*. 2016; 38 (1): 144-151. doi: 10.1007/s11096-015-0219-8.
40. Delhanty PJ, Neggers SJ, van der Lely AJ. Des-acyl ghrelin: a metabolically active peptide. *Endocr Dev*. 2013; 25: 112-21. doi: 10.1159/000346059.
41. Delhanty PJ, Neggers SJ, van der Lely AJ. Should we consider des-acyl ghrelin as a separate hormone and if so, what does it do? // *Front Horm Res*. 2014; 42: 163-174.
42. De Souza CT, Araujo EP, Bordin S, et al. Consumption of a fat-rich diet activates a proinflammatory response and induces insulin resistance in the hypothalamus // *Endocrinology*. 2005; 146 (10): 4192-99.
43. Dedov I, Shestakova M, Benedetti MM, et al. Prevalence of type 2 diabetes mellitus (T2DM) in the adult Russian population (NATION study). *Diabetes Res. Clin. Pract*. 2016; 115:90-95. doi: 10.1016/j.diabres.2016.02.010
44. 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; vol. 12: 40-66. doi: 10.1159/000496183.
45. Farr OM, Gavrieli A, Mantzoros CS. Leptin applications in 2015: what have we learned about leptin and obesity? // *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2015; 22 (5): 353-9. doi: 10.1097/MED.000000000000184.

46. Farr OM, Sofopoulos M, Tsoukas MA, et al. GLP-1 receptors exist in the parietal cortex, hypothalamus and medulla of human brains and the GLP-1 analogue liraglutide alters brain activity related to highly desirable food cues in individuals with diabetes: a crossover, randomised, placebo-controlled trial // *Diabetologia*. 2016; 59 (5): 954-965. doi: 10.1007/s00125-016-3874-y.
47. Farooqi IS, Matarese G, Lord GM, et al. Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency // *J Clin Invest*. 2002; 110: 1093–1103.
48. Farooqi IS, Wangensteen T, Collins S, et al. Clinical and molecular genetic spectrum of congenital deficiency of the leptin receptor // *New Engl J Med*. 2007; 356: 237–247.
49. Finer N. Medical consequences of obesity // *Medicine*. 2015; 43: 88–93.
50. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals // *Nature*. 1998; 395: 763–770.
51. Fujimiya M, Ataka K, Asakawa A, et al. Regulation of gastroduodenal motility: acyl ghrelin, des-acyl ghrelin and obestatin and hypothalamic peptides // *Digestion*. 2012; 85 (2): 90–94.
52. Fujioka K, O’Neil PM, Davies M, et al. Early Weight Loss with Liraglutide 3.0 mg Predicts 1-Year Weight Loss and is Associated with Improvements in Clinical Markers // *Obesity*. 2016; 24: 2278–2288. doi:10.1002/oby.21629.
53. Garvey WT, Mechanick JI, Brett EM, et al. American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology Comprehensive Clinical Practice Guidelines for Medical Care of Patients with Obesity // *Endocr Pract*. 2016; 22 (Supplement 3): 1-203. doi: 10.4158/ep161365.gl.
54. Germain N, Khalfallah Y, Estour B, Galusca B. Insulin tolerance test predicts non response vs. sustained efficacy of Liraglutide on glycemic control in type 2 diabetes patients: A prospective real-world setting study // *Diabetes Res Clin Pract*. 2018; 137: 20-27. doi: 10.1016/j.diabres.2017.12.006.

55. Goldstone AP, Morgan I, Mercer JG, et al. Effect of leptin on hypothalamic GLP-1 peptide and brain-stem pre-proglucagon mRNA // *Biochem Biophys Res Commun.* 2000; 269: 331–335.
56. Gonzalez-Carter D, Goode AE, Fiammengo R, et al. Inhibition of leptin-ObR interaction does not prevent leptin translocation across a human blood-brain Barrier model // *Journal of Neuroendocrinology.* 2016; 28 (6). doi: 10.1111/jne.12392.
57. Granata R, Settanni F, Gallo D, et al. Obestatin promotes survival of pancreatic β -cells and human islets and induces expression of genes involved in the regulation of β -cell mass and function // *Diabetes.* 2008; 57: 967–979.
58. Green BD, Irwin N, Flatt PR. Direct and indirect effects of obestatin peptides on food intake and the regulation of glucose homeostasis and insulin secretion in mice // *Peptides.* 2007; 28: 981–7.
59. Greenberg I, Stampfer MJ, Schwarzfuchs D, Shai I, et al. DIRECT Group. Adherence and success in long-term weight loss diets: the dietary intervention randomized controlled trial (DIRECT) // *J Am Coll Nutr.* 2009; 28: 159-168.
60. Grossi E, Dalle Grave R, Mannucci E, et al. Complexity of attrition in the treatment of obesity: clues from a structured telephone interview // *Int J Obes (Lond).* 2006; 30: 1132-1137.
61. Gutzwiller JP, Göke B, Drewe J, et al. Glucagon-like peptide-1: a potent regulator of food intake in humans // *Gut.* 1999; 44: 81–86.
62. Haider DG, Schindler K, Prager G, et al. Serum retinolbinding protein 4 is reduced after weight loss in morbidly obese subjects // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 2007; 92 (3): 1168–1171.
63. Halawi H, Khemani D, Eckert D, et al. Effects of liraglutide on weight, satiation, and gastric functions in obesity: a randomised, placebo-controlled pilot trial // *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2017; 2 (12): 890-899. doi: 10.1016/S2468-1253(17)30285-6.

64. Halliday TM, Polsky S, Schoen JA, et al. Comparison of surgical versus diet-induced weight loss on appetite regulation and metabolic health outcomes // *Physiol Rep*. 2019; 7(7): e14048. doi: 10.14814/phy2.14048.
65. Hansen L, Deacon CF, Orskov C, Holst JJ. Glucagon-like peptide-1-(7-36) amide is transformed to glucagon-like peptide-1-(9-36)amide by dipeptidyl peptidase IV in the capillaries supplying the L cells of the porcine intestine // *Endocrinology*. 1999; 140: 5356–5363.
66. Hauner H, Woodward E. Looking Back - EASO Is Celebrating Its 30th Anniversary // *Obesity facts*. 2016; 9 (5): 363-4.
67. Hermann C, Goke R, Richter G, et al. Glucagon-like peptide-1 and glucose-dependent insulin-releasing polypeptide plasma levels in response to nutrients // *Digestion*. 1995; 56: 117–126.
68. Heymsfield SB, Wadden TA. Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity // *New Engl J Med*. 2017; 376 (3): 254-266. doi:10.1056/NEJMra1514009/.
69. Hill BR, Rolls BJ, Roe LS, et al. Ghrelin and peptide YY increase with weight loss during a 12-month intervention to reduce dietary energy density in obese women // *Peptides*. 2013; 49: 138–44.
70. Honas JJ, Early JL, Frederickson DD, O'Brien MS. Predictors of attrition in a large clinic-based weight-loss program. *Obes Res*. 2003;11: 888-894;
71. Hooper LE, Foster-Schubert KE, Weigle DS, et al. Frequent intentional weight loss is associated with higher ghrelin and lower glucose and androgen levels in postmenopausal women // *Nutr Res*. 2010; 30: 163-170.
72. Howard AD, Feighner SD, Cully DF, et al. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release // *Science*. 1996; 273 (5277): 974–7.
73. Hsu TM, Hahn JD, Konanur VR, et al. Hippocampal GLP-1 receptors influence food intake, meal size, and effort-based responding for food through volume transmission // *Neuropsychopharmacology*. 2014; 40: 327–37.

74. Huisman S, Maes S, De Gucht VJ, et al. Low goal ownership predicts drop-out from a weight intervention study in overweight patients with type 2 diabetes // *Int J Behav Med*. 2010; 17: 176 -181.
75. Huo L, Gamber KM, Grill HJ, Bjorbaek C. Divergent leptin signaling in proglucagon neurons of the nucleus of the solitary tract in mice and rats // *Endocrinology*. 2008; 149: 492– 497.
76. Isaacs D, Prasad-Reddy L, Srivastava SB. Role of glucagon-like peptide 1 receptor agonists in management of obesity // *Am J Health Syst Pharm*. 2016; 73 (19): 1493-1507. doi: 10.2146/ajhp150990.
77. Jakob Knudsen S, Wernich RT, Pottegard A, et al. Differences Between Randomized Clinical Trial Patients and Real-World Initiators of the Glucagon-Like Peptide 1 Receptor Agonist Liraglutide // *Diabetes Care*. 2018; 41 (9): e133-e135. doi:10.2337/dc18-0999.
78. Jelsing J, Vrang N, Hansen G, et al. Liraglutide: Short-lived effect on gastric emptying - long lasting effects on body-weight // *Diab Obes Metabol*. 2012; 14: 531–538.
79. Jiandani D, Wharton S, Rotondi MA, et al. Predictors of early attrition and successful weight loss in patients attending an obesity management program // *BMC Obes*. 2016; 3: 14. doi: 10.1186/s40608-016-0098-0.
80. Kalra SP, Bagnasco M, Otukonyong E, et al. Rhythmic, reciprocal ghrelin and leptin signaling: new insight of the development of obesity // *Regulatory peptides*. 2003; 111: 1-11.
81. Kanoski SE, Hayes MR, Skibicka KP. GLP-1 and weight loss: unraveling the diverse neural circuitry // *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2016; 310 (10): R885-R895. doi: 10.1152/ajpregu.00520.2015.
82. Knauf C, Cani PD, Ait-Belgnaoui A, et al. Brain glucagon-like peptide 1 signaling controls the onset of high-fat diet-induced insulin resistance and reduces energy expenditure // *Endocrinology*. 2008; 149: 4768 – 4777.

83. Kojima M, Hosoda H, Date Y, et al. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach // *Nature*. 1999; 402 (6762): 656–660.
84. Kolaczynski JW, Nyce MR, Considine RV, et al. Acute and chronic effects of insulin on leptin production in humans: studies in vivo and in vitro // *Diabetes*. 1996; 45: 699–701.
85. Laferrère B, Teixeira J, McGinty J, et al. Effect of weight loss by gastric bypass surgery versus hypocaloric diet on glucose and incretin levels in patients with type 2 diabetes // *J Clin Endocrinol Metab*. 2008; 93 (7): 2479-85. doi: 10.1210/jc.2007-2851.
86. Lean ME, Malkova D. Altered gut and adipose tissue hormones in overweight and obese individuals: cause or consequence? // *International Journal of Obesity*. 2016; 40 (4): 622-632. doi: 10.1038/ijo.2015.220.
87. Lean ME, Carraro R, Finer N, et al. Tolerability of nausea and vomiting and associations with weight loss in a randomized trial of liraglutide in obese, non-diabetic adults // *International Journal of Obesity (Lond)*. 2014; 38 (5): 689-97. doi: 10.1038/ijo.2013.149.
88. Lely van der AJ, Tschöp M, Heiman ML, Ghigo E. Biological, Physiological, Pathophysiological, and Pharmacological Aspects of Ghrelin // *Endocrine Reviews*. 2004; 25 (3): 426-57.
89. Le Roux CW, Astrup A, Fujioka K, et al. Three years of liraglutide versus placebo for type 2 diabetes risk reduction and weight management in individuals with prediabetes: a randomized, double-blind trial // *Lancet*. 2017; 389 (10077): 1399-1409. doi: 10.1016/S0140-6736(17)30069-7.
90. Lippl F, Erdmann J, Lichter N, et al. Relation of plasma obestatin levels to bmi, gender, age and insulin // *Horm Metab Res*. 2008; 40: 806–12.
91. Lippl F, Erdmann J, Steiger A, et al. Low-dose ghrelin infusion-evidence against a hormonal role in food intake // *Regul Pept*. 2012; 174: 26-31.
92. Maffei M, Halaas J, Ravussin E, et al. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects // *Nature Medicine*. 1995; 1: 1155–1161. doi:10.1038/nm1195-1155.

93. Mancini MC, de Melo ME. The burden of obesity in the current world and the new treatments available: focus on liraglutide 3.0 mg // *Diabetol Metab Syndr.* 2017; 9 (1): 44. doi: 10.1186/s13098-017-0242-0
94. Mantzoros CS, Qu D, Frederich RC, et al. Activation of beta (3) adrenergic receptors suppresses leptin expression and mediates a leptin-independent inhibition of food intake in mice // *Diabetes.* 1996; 45: 909–914. doi: 10.2337/diab.45.7.909
95. Martins C, Kjelstrup L, Mostad IL, Kulseng B. Impact of sustained weight loss achieved through Roux-en-Y gastric bypass or a lifestyle intervention on ghrelin, obestatin, and ghrelin/obestatin ratio in morbidly obese patients // *Obes Surg.* 2011; 21: 751–8.
96. Meier JJ, Nauck MA, Kranz D, et al. Secretion, degradation, and elimination of glucagon-like peptide 1 and gastric inhibitory polypeptide in patients with chronic renal insufficiency and healthy control subjects // *Diabetes.* 2004; 53: 654–662.
97. Michalaki MA, Vagenakis AG, Leonardou AS, et al. Thyroid function in humans with morbid obesity // *Thyroid: official journal of the American Thyroid Association.* 2006; 16 (1): 73-8.
98. Mizuno TM, Mobbs CV. Hypothalamic agouti-related protein messenger ribonucleic acid is inhibited by leptin and stimulated by fasting // *Endocrinology.* 1999; 140: 814–817.
99. Morpurgo PS, Resnik M, Agosti F, et al. Ghrelin secretion in severely obese subjects before and after a 3-week integrated body mass reduction program // *J Endocrinol Invest.* 2003; 26: 723-727.
100. Murakami T, Iida M, Shima K. Dexamethasone regulates obese expression in isolated rat adipocytes // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995; 214: 126–27.
101. Nauck MA, Kemmeries G, Holst JJ, Meier JJ. Rapid tachyphylaxis of the glucagonlike peptide 1-induced deceleration of gastric emptying in humans // *Diabetes.* 2011; 60: 1561–1565.

102. Nogueiras R, Pfluger P, Tovar S, et al. Effects of obestatin on energy balance and growth hormone secretion in rodents // *Endocrinology*. 2007; 148: 21–6.
103. Ohara K, Kato Y, Mase T, et al. Eating behavior and perception of body shape in Japanese university students // *Eat Weight Disord*. 2014; 19 (4): 461–468. doi: 10.1007/s40519-014-0130-7/
104. Orskov C, Rabenhoj L, Wettergren A, et al. Tissue and plasma concentrations of amidated and glycine-extended glucagon-like peptide I in humans // *Diabetes*. 1994; 43: 535–539.
105. Pan W, Hsueh H, He Y et al. Astrocyte leptin receptor (ObR) and leptin transport in adult-onset obese mice // *Endocrinology*. 2008; 149: 2798–2806.
106. Park HK, Ahima RS. Physiology of leptin: energy homeostasis, neuroendocrine function and metabolism // *Metabolism*. 2015; 64: 24-34.
107. Peeters TL. Ghrelin: a new player in the control of gastrointestinal functions // *Gut*. 2005; 54 (11): 1638–49.
108. Pi-Sunyer X, Astrup A, Fujioka K, et al. A Randomized, Controlled Trial of 3.0 mg of Liraglutide in Weight Management // *New Engl J Med*. 2015; 373 (1): 11-22. doi: 10.1056/NEJMoa1411892.
109. Rácz B, Dušková M, Stárka L, et al. Links Between the Circadian Rhythm, Obesity and the Microbiome // *Physiol. Res*. 2018; 67 (Suppl. 3): S409-S420.
110. Ranganath LR, Beety JM, Morgan LM, et al. Attenuated GLP-1 secretion in obesity: cause or consequence? // *Gut*. 1996; 38: 916–919.
111. Ren G, He Z, Cong P, et al. Peripheral administration of TAT-obestatin can influence the expression of liporegulatory genes but fails to affect food intake in mice // *Peptides*. 2013; 42: 8–14.
112. Roberts CA, Christiansen P, Halford JCG. Tailoring pharmacotherapy to specific eating behaviours in obesity: Can recommendations for personalized therapy be made from the current data? // *Acta Diabetol*. 2017; 54 (8): 715-725. doi: 10.1007/s00592-017-0994-x.

113. Rocca AS, Brubaker PL. Role of the vagus nerve in mediating proximal nutrient-induced glucagon-like peptide-1 secretion // *Endocrinology*. 1999; 140: 1687–1694.
114. Roth CL, Reinehr T, Schernthaner GH, et al. Ghrelin and obestatin levels in severely obese women before and after weight loss after Roux-en-Y gastric bypass surgery // *Obes Surg*. 2009; 19: 29–35.
115. Segal KR, Landt M, Klein S. Relationship between insulin sensitivity and plasma leptin concentration in lean and obese men // *Diabetes*. 1996; 45: 988–9.
116. Seyssel K, Alliot X, Nazare JA, et al. Plasma acyl-ghrelin increases after meal initiation: A new insight // *Eur J Clin Nutr*. 2016; 70: 790-794, doi:10.1038/ejcn.2015.181.
117. Sibiliana V, Bresciani E, Lattuada N, et al. Intracerebroventricular acute and chronic administration of obestatin minimally affect food intake but not weight gain in the rat // *J Endocrinological Investigation*. 2006; 29 (11): RC31–RC34.
118. Sisley S, Gutierrez-Aguilar R, Scott M, et al. Neuronal GLP1R mediates liraglutide's anorectic but not glucose-lowering effect // *J Clin Invest*. 2014; 124 (6): 2456-2463. doi: 10.1172/jci72434.
119. Sumithran P, Prendergast LA, Delbridge E, et al. Long-term persistence of hormonal adaptations to weight loss // *New Engl J Med*. 2011; 365: 1597-1604.
120. Thaler JP, Yi CX, Schur EA, et al. Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans // *J. Clin. Invest*. 2012; 122: 153–162.
121. Toshinai K, Mondal MS, Nakazato M, et al. Upregulation of ghrelin expression in the stomach upon fasting, insulin-induced hypoglycemia, and leptin administration // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2001; 281: 1220-5.
122. Tschöp M, Weyer C, Tataranni PA, et al. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity // *Diabetes*. 2001; 50 (4): 707–9.
123. Unniappan S, Speck M, Kieffer TJ. Metabolic effects of chronic obestatin infusion in rats // *Peptides*. 2008; 29: 1354–61.

124. Vicennati V, Genghini S, De Iasio R, et al. Circulating obestatin levels and the ghrelin/obestatin ratio in obese women // *Eur J Endocrinol*. 2007; 157: 295–301.
125. Vidal PM. Eating behaviour in a sample of portuguese health science students; relationships with obesity, dieting, and self-esteem // *Alimentação Humana*. 2006; 12 (3): 120-127.
126. Vilsboll T, Agero H, Krarup T, Holst JJ. Similar elimination rates of glucagon-like peptide-1 in obese type 2 diabetic patients and healthy subjects // *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88: 220–224.
127. Vilsboll T, Krarup T, Deacon CF, et al. Reduced postprandial concentrations of intact biologically active glucagon-like peptide 1 in type 2 diabetic patients // *Diabetes*. 2001; 50: 609–613.
128. Wabitsch M, Funcke J-B, Lennerz B, et al. Biologically inactive leptin and early-onset extreme obesity // *New Engl J Med*. 2015; 372: 48–54.
129. Wettergren A, Pridal L, Wøjdemann M, Holst JJ. Amidated and non-amidated glucagon-like peptide-1 (GLP-1): nonpancreatic effects (cephalic phase acid secretion) and stability in plasma in humans // *Regul. Pept*. 1998; 77: 83–87.
130. Wharton S, Liu A, Pakseresht A, et al. Real-World Clinical Effectiveness of Liraglutide 3.0 mg for Weight Management in Canada // *Obesity (Silver Spring)*. 2019 Jun; 27 (6): 917-924. doi: 10.1002/oby.22462.
131. Wren AM, Seal LJ, Cohen MA, et al. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans // *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86: 5992. doi:10.1210/jcem.86.12.8111.
132. Yannakoulia M, Yiannakouris N, Bluher S, et al. Body fat mass and macronutrient intake in relation to circulating soluble leptin receptor, free leptin index, adiponectin, and resistin concentrations in healthy humans // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2003; 88: 1730–1736. doi: 10.1210/jc.2002-021604

133. Yumuk V, Tsigos C, Fried M, et al. European Guidelines for Obesity Management in Adults // *Obesity facts*. 2015; 8 (6): 402-24. doi: 10.1159/000442721.
134. Zamrazilova H, Hainer V, Sedlackova D, et al. Plasma obestatin levels in normal weight, obese and anorectic women // *Physiological Research*. 2008; 57 (1): S49–S55.
135. Zhang JV, Jahr H, Luo CW, et al. Obestatin induction of early-response gene expression in gastrointestinal and adipose tissues and the mediatory role of G-protein-coupled receptor, GPR39 // *Mol Endocrinol*. 2008; 22: 1464–1475.
136. Zhang J, Scarpace PJ. The soluble leptin receptor neutralizes leptin mediated STAT3 signalling and anorexic responses in vivo // *Br J Pharmacol*. 2009; 158: 475-482. doi: 10.1111/j.1476-5381.2009.00246.x
137. Zhang JV, Ren PG, Avsian-Kretchmer O, et al. Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake // *Science*. 2005; 310: 996–999.
138. Zhang N, Yuan C, Li Z, et al. Meta-analysis of the relationship between obestatin and ghrelin levels and the ghrelin/obestatin ratio with respect to obesity // *Am J. Med Sci*. 2011; 341: 48–55.
139. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue // *Nature*. 1994; 372 (6505): 425-32
140. Zou CC, Liang L, Wang CL, et al. The change in ghrelin and obestatin levels in obese children after weight reduction // *Acta Paediatr*. 2009; 98: 159–65.
141. Zwirska-Korczala K, Konturek SJ, Sodowski M, et al. Basal and postprandial plasma levels of PYY, ghrelin, cholecystokinin, gastrin and insulin in women with moderate and morbid obesity and metabolic syndrome // *J Physiol Pharmacol*. 2007; 58 Suppl 1: 13-35.