



АБРАМОВА

Мария Евгеньевна

**«Оптимизация тактики ведения беременных с гестационным
сахарным диабетом»**

Специальность: 3.1.4. Акушерство и гинекология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва, 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор
доктор биологических наук

Ходжаева Зульфия Сагдуллаевна
Силачев Денис Николаевич

Официальные оппоненты:

Петрухин Василий Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии», директор

Капустин Роман Викторович – доктор медицинских наук, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», Минобрнауки России, заведующий отделом акушерства и перинатологии

Ведущая организация: ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Минздрава России

Защита состоится «16» мая 2023г. в 13.00 часов на заседании диссертационного совета 21.1.022.01 на базе ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России по адресу 117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России <https://science.ncagp.ru/upfiles/pdf/Abramova%20ME%20-disser.pdf?888960877>

Автореферат разослан «__» _____ 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор



Калинина Елена Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Гипергликемия во время беременности отмечается в 14% случаев среди европейской популяции женщин, в 16% - связана с различными видами диабета, а в 84% - ассоциирована с гестационным сахарным диабетом (ГСД) (IDF Diabetes Atlas, 8th ed. 2017), и наблюдается тенденция к росту заболевания. ГСД – гетерогенная группа заболеваний, впервые выявленных во время беременности и характеризующихся гипергликемией, не соответствующей критериям манифестного сахарного диабета (СД) (Дедов И.И. 2019). Данное определение подразумевает наличие различных патологических состояний, в том числе, вероятно, имевших место до наступления беременности, доминирующим клинико-лабораторным проявлением которых является гипергликемия. ГСД повышает риск неблагоприятных исходов беременности и оказывает долгосрочное негативное воздействие на последующее здоровье матери и ребенка, включая ожирение, метаболический синдром, СД 2-го типа, артериальную гипертензию (Scholtens D. et al. 2019).

Принятые диагностические критерии ГСД в РФ в конце второго и в начале третьего триместров беременности соответствуют многим международным профессиональным медицинским ассоциациям, включая Всемирную Организацию Здравоохранения (A World Health Organization Guideline. 2013). Однако следует отметить, что критерии ГСД приняты на основании Консенсуса, а не на основании доказательных исследований, что ведет, по мнению специалистов, к гипердиагностике заболевания. Также следует отметить, что медицинские вмешательства по коррекции гипергликемии в конце второго - третьем триместрах являются недостаточно эффективными для предотвращения неблагоприятных исходов беременности для матери и плода. Именно поэтому особенно актуален вопрос о диагностике нарушений углеводного обмена в ранние сроки беременности.

Описаны возможности прогнозирования ГСД на основании полиморфизма различных генов с учетом многофакторности заболевания и нередкого сочетания нескольких этиологических причин. Вместе с тем использование в качестве предикторов ГСД внеклеточных везикул (ВВ) из плазмы крови представляется уникальным методом. ВВ активно секретируются всеми типами клеток во внеклеточное пространство и присутствуют во многих биологических жидкостях, включая плазму, сыворотку, амниотическую жидкость и грудное молоко (Colombo M. et al. 2014). Исследования показали, что концентрация ВВ в плазме выше у нормальных беременных, чем у небеременных женщин (Sarker S. et al. 2014). А позднее было продемонстрировано двукратное повышение содержания ВВ плаценты в крови у женщин с ГСД по сравнению с таковыми при нормальной беременности (Salomon C. et al. 2016), что может предоставить новые возможности для предикции ГСД.

Наиболее частым осложнением внутриутробной гипергликемии, независимо от типа СД у матери, является развитие диабетической фетопатии (ДФ). Одним из основных методов

диагностики ДФ и макросомии является ультразвуковое исследование. Основой ранней диагностики диабетической фетопатии является выявление признаков макросомии плода. Однако в литературе, в основном, имеются исследования, проведенные в третьем триместре (Sovio U. et al. 2018).

Таким образом, актуальным научно-практическим направлением является поиск ранних предикторов развития ГСД, своевременная диагностика формирования макросомии плода на основании УЗ-контроля роста плода по данным перцентильных таблиц, своевременное определение рациональной лечебной тактики, с целью улучшения прогноза для жизни и здоровья новорожденных и их матерей.

Степень разработанности темы исследования

По мере того как ожирение и поздние роды становятся все более распространенными, все больше женщин вступают в беременность с нарушенным метаболизмом глюкозы, включая как преддиабет, так и менее выраженные нарушения. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что выявление и коррекция гипергликемии с ранних сроков беременности имеет важное значение. Разработанные критерии перорального теста на толерантность к глюкозе (ПГТТ) были направлены на диагностику диабета матери или прогнозирование перинатальных исходов. Тем не менее, глобального консенсуса в отношении наиболее подходящей стратегии скрининга ГСД достигнуто не было, и существующая практика варьируется между странами и внутри стран.

В последнее десятилетие внеклеточные везикулы были признаны важным медиатором межклеточной коммуникации, регулирующей биологические процессы на клетках-мишенях.

Изложенное выше показывает необходимость прогнозирования и ранней диагностики ГСД, поиска и внедрения эффективных маркеров риска развития ГСД и связанных с ним осложнений, стандартизации оказания помощи беременным с выявленным ГСД с целью улучшения перинатальных и отдаленных исходов как для матери, так и для ребенка.

Цель исследования:

Прогнозирование и ранняя диагностика гестационного сахарного диабета с целью оптимизации тактики ведения беременных на основании клинико-лабораторных и молекулярных методов исследования.

Задачи исследования:

1. Представить клинико-anamnestическую характеристику обследованных и изучить особенности течения беременности при раннем и позднем ГСД.
2. Провести сравнительный анализ результатов раннего (в 11-14 недель беременности) и стандартного (в 24-28 недель) ПГТТ.
3. Исследовать прогностическую и диагностическую значимость внеклеточных везикул плазмы крови в 11-14 недель беременности.

4. Исследовать уровни экспрессии микроРНК в плазме периферической крови женщин с физиологическим течением беременности и с ГСД на 11-14 неделе беременности для идентификации диагностически значимых молекул.
5. Провести сопоставительный анализ оценки результатов гликемического мониторинга с динамикой роста плода (по перцентильным таблицам УЗИ) – после 20 недель для объективизации показаний к инсулинотерапии.
6. Проанализировать особенности течения, исходы беременности и родов, а также раннего неонатального периода у пациенток в зависимости от методов лечения ГСД.
7. На основании полученных данных представить алгоритм ведения беременных с гестационным сахарным диабетом.

Научная новизна

На основании проведенного исследования получены данные по клиничко-анамнестическим факторам риска развития ГСД. Проведено сравнительное исследование результатов ПГТТ в 1 триместре и в 24-28 недель беременности. Обнаружено, что результаты раннего ПГТТ коррелируют с результатами ПГТТ, проведенного в стандартные сроки.

Определена прогностическая роль динамического УЗ-контроля роста плода для диагностики макросомии и объективизации показаний к инсулинотерапии.

Впервые получены данные о роли внеклеточных везикул плазмы крови в предикции ГСД, которые свидетельствуют о том, что в 11–14 недель женщины, с развившимся впоследствии во II–III триместрах ГСД, имеют значительно более высокие концентрации ВВ.

Впервые создана панель из комбинаций микроРНК (miR-16-5p, miR-1307-3p, miR-186, miR-150-5p, miR-652-3p, miR-382-5p, miR-378-3p), которая с точностью 84% выявляет пациентов с ранним ГСД, а при сочетанном определении глюкозы натощак и этой комбинации мкРНК выявлено значительное улучшение прогностической ценности.

Теоретическая и практическая значимость

Наши результаты свидетельствуют о важности раннего скрининга и диагностики ГСД с целью исключения, в первую очередь манифестного сахарного диабета, что может способствовать снижению краткосрочных и отдаленных осложнений для беременной и плода. Наше исследование показало, что ранний ГСД связан с более неблагоприятными исходами, чем выявленный после 24-28 недель. Ранняя диагностика и лечение имеют решающее значение, поскольку субоптимальные внутриутробные условия для роста и развития в критические периоды жизни плода влияют на программу его развития и могут вызвать заболевание в раннем неонатальном периоде, а также различные хронические заболевания в дальнейшей жизни.

Определение внеклеточных везикул плазмы крови позволит оптимизировать предикцию и раннюю диагностику ГСД. Использование ВВ, полученных методом, применимым к

клинической практике, является потенциальной нишей для проведения ранней диагностики ГСД в популяции. Оценка уровня экспрессии циркулирующих микроРНК в материнской плазме может служить прогностическим биомаркером ГСД.

Доказанные предикторы раннего ГСД, могут быть использованы в практическом здравоохранении, что обеспечит своевременную диагностику ГСД, что в дальнейшем позволит определить оптимальную тактику ведения данных пациентов и своевременно проводить диагностику, профилактику и лечение, что приведёт к снижению акушерских осложнений и улучшению перинатальных исходов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Ранний гестационный сахарный диабет достоверно чаще развивается у повторнобеременных ≥ 35 лет, с избыточной исходной массой тела, хронической артериальной гипертензией и имевших ранее гестационный сахарный диабет и рождение крупновесных детей. У беременных с ранним ГСД достоверно чаще встречаются следующие осложнения: гипертензивные расстройства, многоводие, вульвовагинальные инфекционно-воспалительные заболевания.
2. Результаты раннего ПГТТ, проведенного в 11-14 недель беременности, коррелируют с результатами ПГТТ, проведенного в стандартные сроки. У беременных высокого риска ГСД был выявлен в 57,2%, а среди них ранний ГСД развился в 72,0% случаев. При раннем выявлении ГСД отмечалась более высокая частота поздних преждевременных родов, кесарева сечения, родового травматизма (кефалогематома, перелом ключицы) и неонатальной заболеваемости (ВЖК, РДС и ВПС).
3. Проведение динамической УЗ-фетометрии (оценка динамики роста плода согласно перцентильным таблицам) при ГСД, начиная с 18-20 недель беременности, позволит объективизировать назначение инсулинотерапии наряду с учетом показателей гликемического контроля.
4. У беременных в 11-14 недель с развившимся впоследствии ГСД отмечается более высокая концентрация внеклеточных везикул в плазме крови, что позволяет считать их потенциальными ранними биомаркерами-предикторами заболевания. Циркулирующие микроРНК в материнской плазме могут также служить прогностическими биомаркерами ГСД в 1 триместре беременности, поскольку выделенная панель из комбинации микроРНК (miR-16-5p, miR-92a-3p, miR-186, miR-652-3p, miR-382-5p, miR-378-3p) с точностью 84% выявляет пациентов с ранним ГСД. Сочетанное определение уровня глюкозы натощак и описанной комбинации мкРНК позволяет повысить раннюю предикцию ГСД до 96%.

Личный вклад автора

Диссертант принимал непосредственное участие в определении тематики научного исследования, формировании методологической структуры, формулировке цели и задач, подборе пациенток, сборе биологического материала, обобщении, анализе, статистической обработке полученных результатов и публикации результатов исследования. Автор проанализировал данные медицинской документации, выполнил клиническую часть работы и научное обобщение полученных результатов.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 2, 3, 4 и 6 паспорта специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология.

Апробация результатов

Основные результаты исследования были представлены на XX Международном симпозиуме DIP: Diabetes, Hypertension, Metabolic Syndrome and Pregnancy (Флоренция, 2019г.), XIX региональном научном форуме «Мать и дитя» (Москва, 2019г.), XXI Всероссийском научном форуме «Мать и дитя» (Москва, 2020г.), XXII Всероссийском научном форуме «Мать и дитя» (Москва, 2021г.). В конкурсе молодых ученых XXII Научно-образовательного форума Российского общества акушеров-гинекологов "Мать и Дитя" (Москва, 2021г.) доклад на тему «Роль внеклеточных везикул в прогнозировании гестационного сахарного диабета» занял III место. Работа обсуждена на межклинической конференции (14.07.2022) и заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (30.01.2023, протокол №2).

Внедрение результатов исследования в практику

Разработанные выводы и положения, базирующиеся на результатах исследования, активно используются в практической деятельности акушерских и поликлинического отделений ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (директор академик РАН Г.Т. Сухих). Основные заключения и рекомендации по итогам работы включены в лекции и практические семинары для клинических ординаторов и аспирантов ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. По теме диссертации опубликовано 5 печатных научных работ, в том числе 4 статьи - в рецензируемых научных журналах.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена в традиционной форме. Состоит из введения, обзора литературы, глав собственного исследования, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, приложения. Работа представлена на 147 страницах, иллюстрирована 17 рисунками и 34 таблицами. Библиографический указатель включает 20 работ на русском и 238 - на английском языках.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

В исследование включено 175 беременных, которые были разделены на 3 группы и 4 подгруппы в зависимости от результатов ПГТТ, проведенного в 11-14 недель беременности и в 24-28 недель беременности (за исключением пациентов с ранним ГСД на инсулинотерапии); распределение беременных представлено в таблице 1.

Таблица 1. – Группы беременных

Группы	Подгруппы	Характеристика	Количество беременных
I группа	I А	Пациентки с ранним ГСД, находящиеся на диетотерапии	36
	I В	Пациентки с ранним ГСД, находящиеся на инсулинотерапии	22
II группа	II А	Пациентки с поздним ГСД, находящиеся на диетотерапии	19
	II В	Пациентки с поздним ГСД, находящиеся на инсулинотерапии	8
III группа сравнения	-	Пациентки с нормогликемией	90

Критерии включения для всех участников исследования: возраст пациенток 18-45 лет, одноплодная беременность.

Критерии включения в I группу исследования:

- ✓ Одноплодная беременность;
- ✓ ГСД, подтвержденный при проведении раннего ПГТТ в сроке 11-14 недель беременности.

Критерии включения во II группу исследования:

- ✓ Одноплодная беременность;
- ✓ ГСД, подтвержденный при проведении стандартного ПГТТ в сроке 24-28 недель беременности.

Критерии включения в III группу исследования:

- ✓ Одноплодная беременность, завершившаяся своевременными родами (≥ 39 недель);
- ✓ Отсутствие ГСД по результатам ПГТТ.

Первый этап исследования включал проведение ПГТТ пациенткам в сроке 11-14 недель беременности. Пациентки с ГСД согласно действующим клиническим рекомендациям и критериям IADPSG составили основную группу в исследовании, в котором были детально проанализированы клиничко-анамнестические, инструментальные данные с оценкой акушерских и неонатальных исходов. На втором этапе исследования пациенткам было предложено проведение исследования ВВ плазмы крови с целью оценки их способности к ранней предикции ГСД; одновременно проводилось исследование микроРНК плазмы крови. На третьем этапе исследования пациенткам проводился повторный ПГТТ в сроки беременности 24-28 недель (за исключением беременных с ранним ГСД на инсулинотерапии). На четвертом этапе был проведен сравнительный анализ динамики роста плодов по данным УЗ-исследования у пациенток с ранним ГСД, поздним ГСД и нормогликемией. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

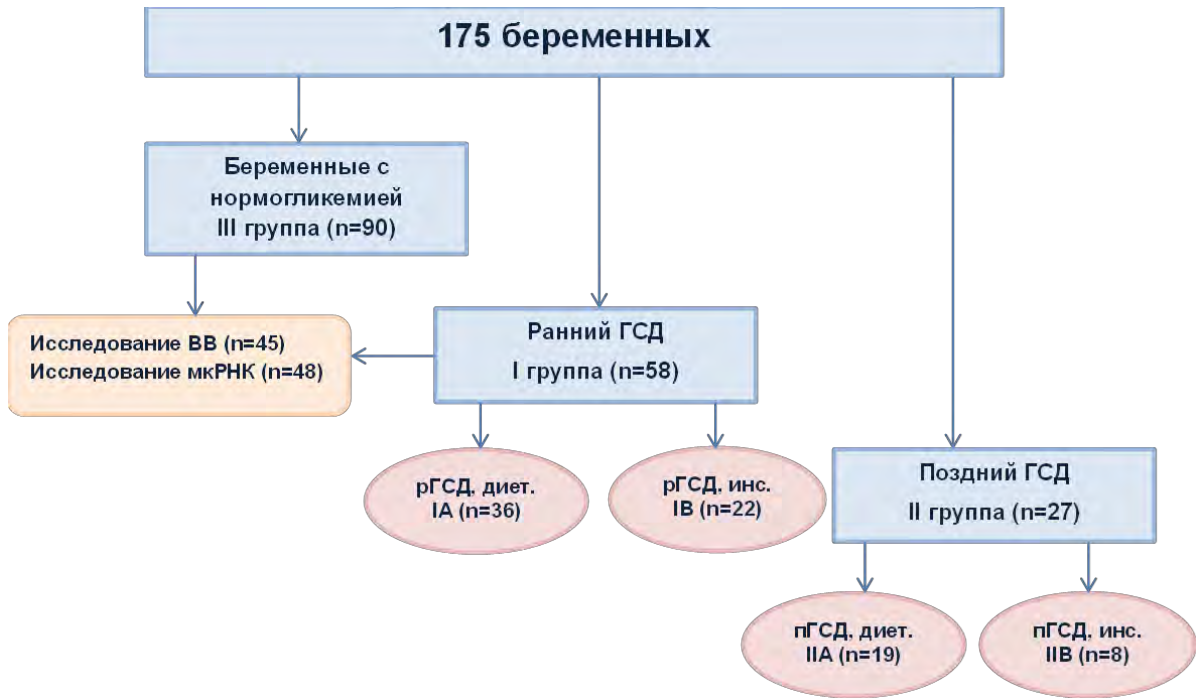


Рис. 1. Дизайн исследования

Все анализируемые результаты вносились в индивидуально разработанную регистрационную карту и в электронную базу данных на платформе MS Excel Microsoft. Статистическая обработка данных выполнялась с помощью электронных таблиц «Microsoft Excel» и программы StatTech v. 2.8.2.

Результаты собственных исследований и их обсуждение

Комплексный анализ клинико-anamnestических данных

Средний возраст обследованных пациенток, составил 34,9 (5,1) лет. Возраст, пациенток с ранним ГСД был достоверно выше по сравнению с группой сравнения (38,0 (34,0; 41,7); $p < 0,001$), также были выявлены существенные различия при сравнении возраста пациенток I и II групп ($p = 0,045$). Было установлено, что пациентки с ранним ГСД имели значимо больший ИМТ (23,95 (22,00; 28,85)), по сравнению с группой сравнения (22,10 (20,00; 25,93), $p = 0,018$), а наибольшие показатели отмечались в IB подгруппе (25,50 (23,12; 31,62), $p = 0,027$). Анализ наследственной отягощенности пациенток выявил достоверные различия между группами. Частота сахарного диабета 2 типа выше у родственников пациенток с ранним ГСД ($p = 0,037$). При сравнительном анализе экстрагенитальной патологии в анамнезе не выявлено статистически значимых различий между подгруппами, общая коморбидность была в равной степени распространена между группами. Однако, заболевания сердечно-сосудистой системы (а именно хроническая артериальная гипертензия) чаще встречалась у женщин I группы – 25,9% по сравнению с женщинами III группы – 10,0% ($p = 0,033$).

При изучении особенностей гинекологического анамнеза обследованных выявлено, что фактически все нозологии в группах встречались одинаково часто. Однако встречаемость СПКЯ у пациенток, была достоверно выше в подгруппе пациенток с ранним ГСД на инсулинотерапии

– 22,7% ($p=0,020$), по сравнению с другими обследованными (рис. 2).

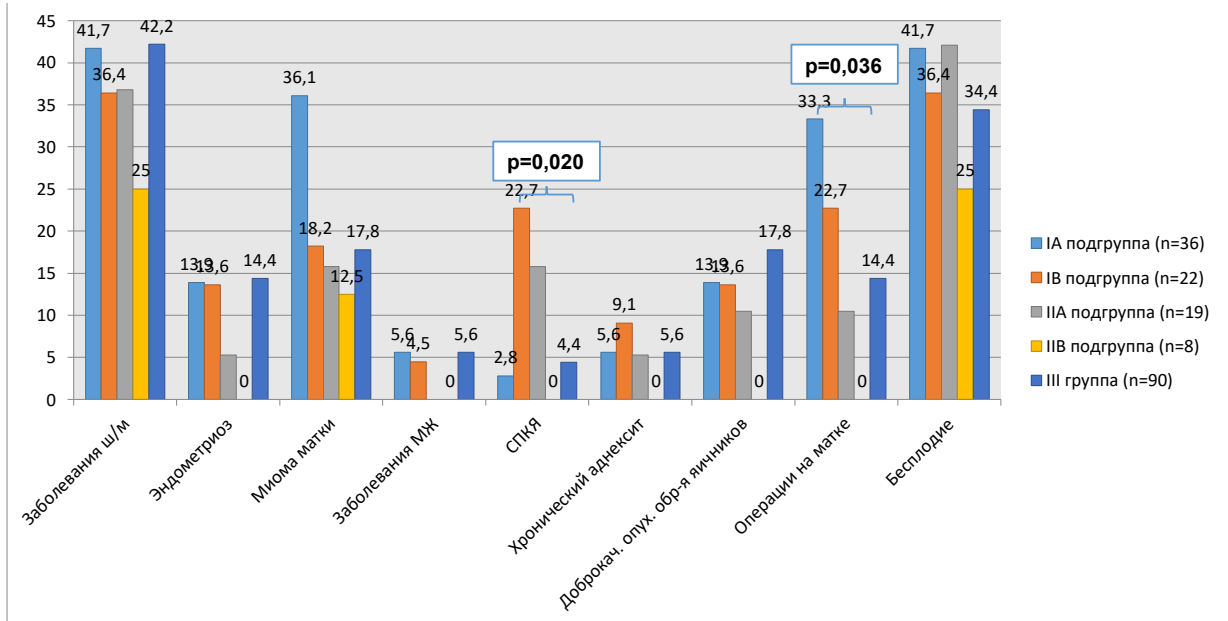


Рис. 2. Гинекологический анамнез

Анализ репродуктивного анамнеза показал, что повторнобеременные женщины чаще наблюдались в группе с ранним ГСД (79,3%), по сравнению с группой сравнения (65,6%), но статистически значимой разницы получено не было ($p=0,222$). Применение ВРТ не оказывало влияние на развитие ГСД. Внематочная беременность в анамнезе чаще встречалась в подгруппе ПВ – 25,0% по сравнению с контрольной группой – 7,8% ($p=0,006$) (рис. 3). Анализ особенностей течения предыдущих беременностей показал, что частота ГСД оказалась статистически значимо выше у пациенток с ранним ГСД (42,9%) по сравнению с группой сравнения (4,8%), а в подгруппе раннего ГСД на инсулинотерапии – 58,3% ($p<0,001$). Таким образом, каждая последующая беременность осложняется повторным развитием ГСД, требующего в большинстве случаев назначения инсулинотерапии. Рождение крупного плода в анамнезе также чаще встречалось у пациенток с ранним ГСД ($p=0,047$).

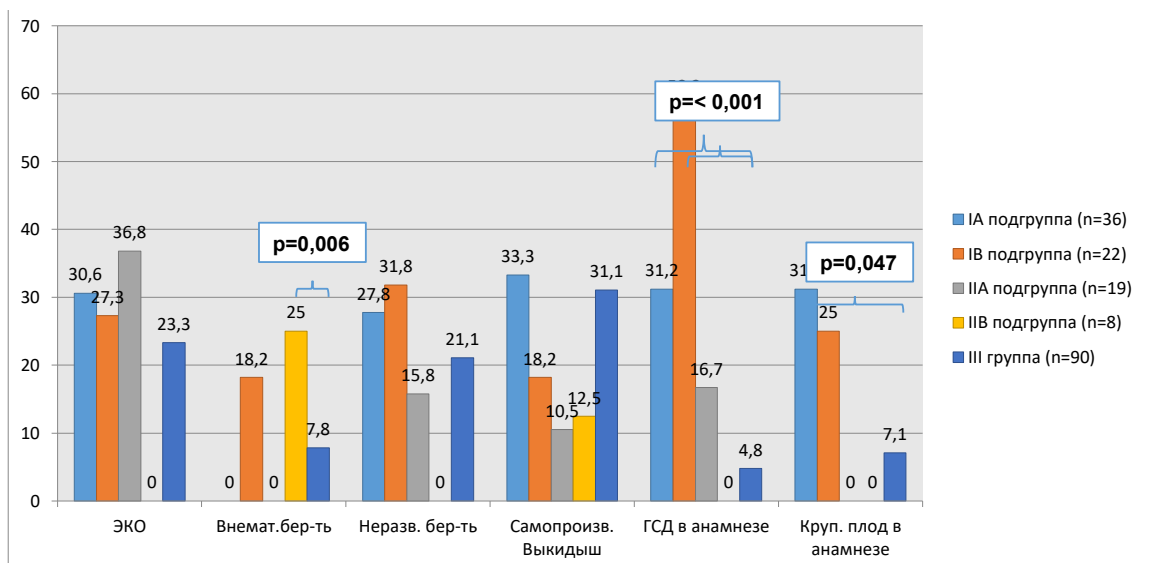
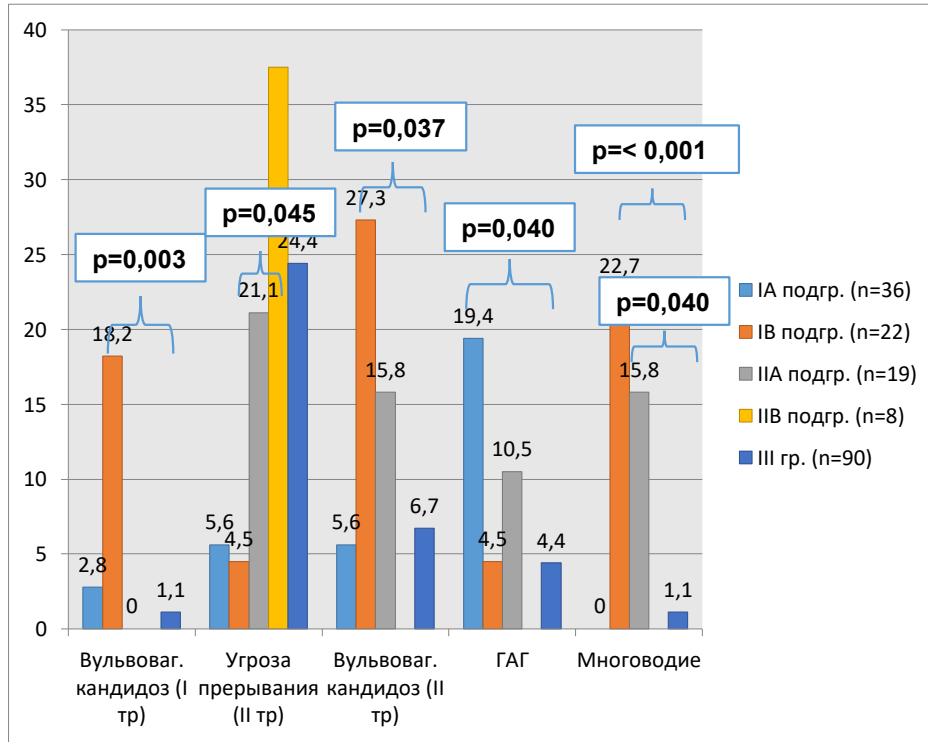


Рис. 3. Акушерский анамнез

Анализ течения беременности показал, что, начиная с I триместра, статистически более часто отмечались нарушения микробиоты влагалища, а именно вульвагинальный кандидоз у беременных с ранним ГСД на инсулинотерапии - в IV подгруппе ($p=0,003$). Гипертензивные расстройства во время беременности, многоводие чаще диагностировались у женщин группы раннего ГСД (рис. 4).



Общая прибавка в весе тел.

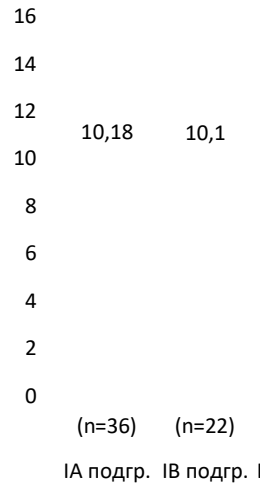


Рис. 4. Течение беременности

При анализе частоты развития ГСД в зависимости от наличия факторов риска ГСД, были получены следующие данные: у беременных высокого риска ГСД был выявлен в 57,2% (41,2% - ранний ГСД) случаев, в то же время и у пациенток с низким риском развития ГСД это осложнение беременности развивалось в 23,5% (при этом в 17,6% случаев был выявлен ранний ГСД), $p<0,001$. Следует отметить, что пациенты группы раннего ГСД в 84,5% имели высокий риск развития этого осложнения беременности, причем беременные на инсулинотерапии – в 86,4% (рис. 5).

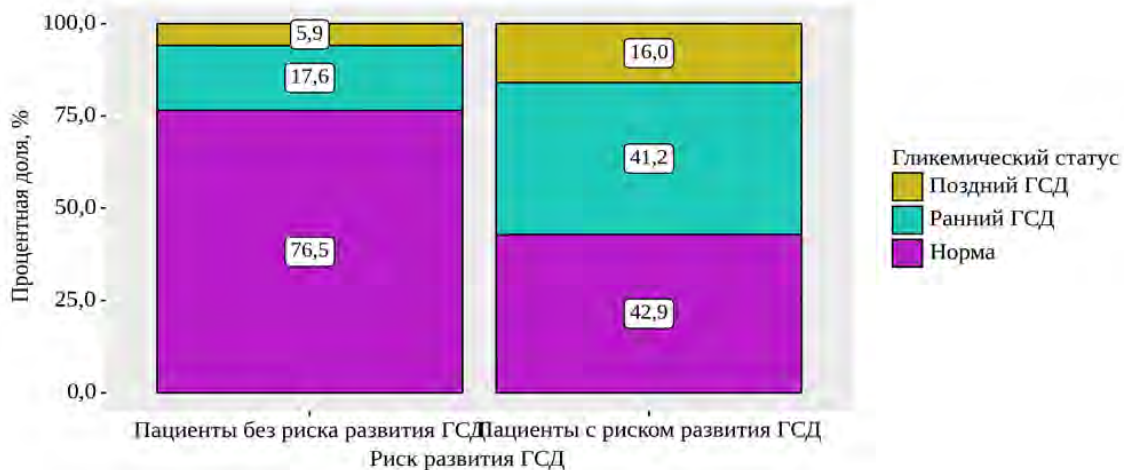


Рис. 5. Развитие ГСД в зависимости от наличия факторов риска

Всем пациентам, включенным в исследование, был проведен ПГТТ с 75 г глюкозы в первом триместре беременности (11-14 недель, ПГТТ-1), результаты представлены в таблице 2. Диагноз ГСД устанавливался на основании критериев IADPSG. Ранний ГСД был диагностирован у 58 человек. Женщинам с диагностированным ГСД на раннем сроке беременности было рекомендовано проводить самоконтроль гликемии с помощью портальных приборов (глюкометров) натошак и через 1 час после основных приемов пищи. По результатам 22 пациенткам была назначена инсулинотерапия. В последующем 153 пациенткам (за исключением подгруппы IV) был проведен ПГТТ в стандартные сроки (ПГТТ-2). Поздний ГСД был диагностирован у 27 женщин. Восемью (15,7%) беременным с поздним ГСД потребовалась инсулинотерапия. У 32 из 36 беременных с диагностированным ранним ГСД по ПГТТ-1 при повторном его проведении в стандартные сроки (ПГТТ-2) диагноз был подтвержден. Учитывая аномальные значения ПГТТ-1, всем беременным этой подгруппы была назначена диетотерапия. Показатели уровня глюкозы крови значительно отличались между группами.

Таблица 2. – Результаты ПГТТ

Показатель	IA подгруппа n=36	IV подгруппа n=22	IIA подгруппа n=19	IVB подгруппа n=8	III группа n=90	p-value
	рГСД (диета)	рГСД (инс.)	пГСД (диета)	пГСД (инс.)	Норма	
Результаты перорального глюкозо-толерантного теста в 11-14 недель беременности						
Глюкоза крови натошак, ммоль/л*	5,10 (4,67; 5,30)	5,40 (5,22; 5,40)	4,80 (4,65; 5,00)	4,20 (4,15; 4,60)	4,55 (4,40; 4,80)	< 0,001
Глюкоза крови через 1 час, ммоль/л*	9,55 (8,32; 10,40)	10,10 (8,40; 10,57)	8,0 (7,60; 9,35)	8,70 (8,10; 9,25)	7,05 (6,22; 8,45)	< 0,001
Глюкоза крови через 2 часа, ммоль/л*	8,20 (6,67; 9,25)	8,60 (7,03; 9,0)	7,50 (6,15; 8,40)	8,40 (7,55; 8,40)	6,15 (5,22; 7,10)	< 0,001
Результаты стандартного перорального глюкозо-толерантного теста						
Глюкоза крови натошак, ммоль/л*	5,0 (4,60; 5,20)	-	5,10 (4,60; 5,30)	4,10 (4,05; 4,20)	4,50 (4,30; 4,70)	< 0,001
Глюкоза крови через 1 час, ммоль/л**	9,22 (1,54)	-	8,56 (1,40)	9,17 (1,71)	7,28 (1,17)	< 0,001
Глюкоза крови через 2 часа, ммоль/л**	8,10 (1,88)	-	8,07 (1,78)	9,0 (1,91)	6,37 (1,19)	< 0,001

Рисунок 6 отображает изменения уровней глюкозы в плазме крови натошак, через 1 и 2 часа при ПГТТ в 11-14 недель беременности по сравнению с ПГТТ в 24-28 недель у женщин подгрупп IA, IIA, IVB и III группы. ПГТТ-2 пациенткам с ранним ГСД на инсулинотерапии не проводилось. Значения уровня глюкозы раннего ПГТТ существенно не отличались от значений ПГТТ, проведенного в стандартные сроки. Воспроизводимость ранних и стандартных результатов ПГТТ составила 82,4%, рассчитанная как доля случаев с одинаковым диагнозом в обоих ПГТТ. Таким образом, ПГТТ в сроке 11-14 недель имеет важную клиническую значимость для раннего выявления ГСД.

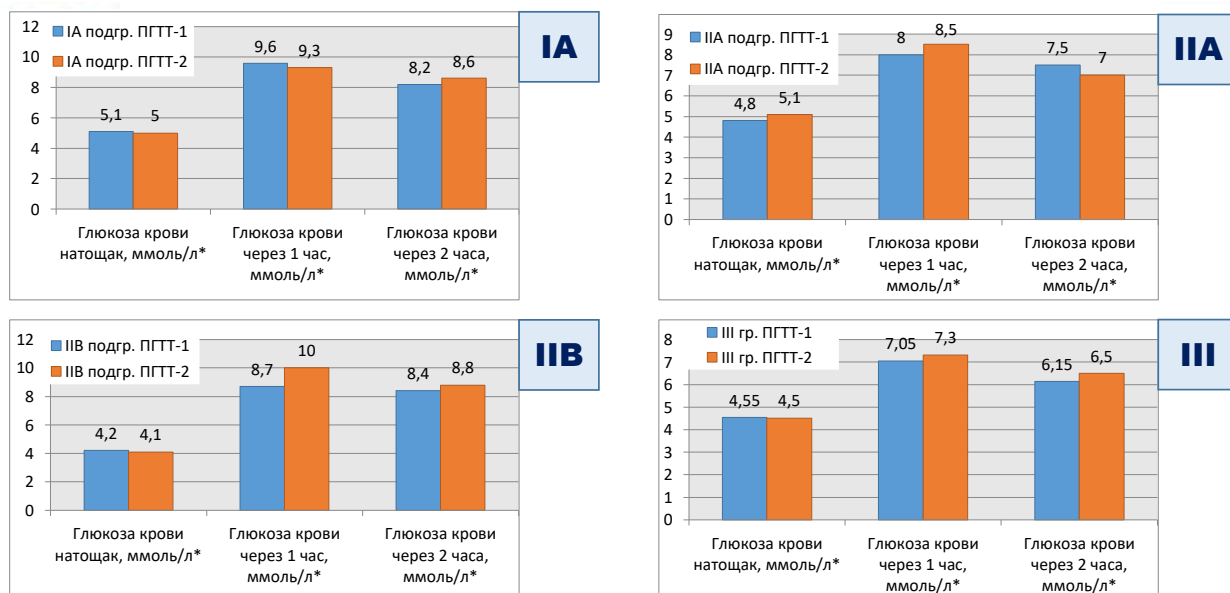


Рис. 6. Сравнение ПГТТ-1 и ПГТТ-2

В таблице 3 представлены акушерские исходы обследованных беременных. Наиболее высокая частота преждевременных родов наблюдалась в группе пациенток с ранним ГСД (12,1%, $p=0,501$), а при внутригрупповом анализе - в подгруппе пациенток с ранним ГСД на инсулинотерапии по сравнению с беременными группы сравнения (27,3% против 7,8%, $p=0,020$). Средний срок родоразрешения был также ниже среди беременных подгруппы раннего ГСД на инсулинотерапии (38,1 (37,2; 39,2) недель, $p=0,014$). Пациенты группы раннего ГСД имели более высокую частоту родоразрешения путем операции кесарева сечения (62,1% против 40,0%, $p=0,031$).

Таблица 3. – Исходы родов у обследованных женщин

Показатель	IA подгруппа n=36	IB подгруппа n=22	IIA подгруппа n=19	IIB подгруппа n=8	III группа n=90	p-value
	рГСД (диета)	рГСД (инс.)	пГСД (диета)	пГСД (инс.)		
Средний срок родоразрешения, недель*	39,0 (37,6; 39,5)	38,1 (37,2; 39,2)	38,6 (37,4; 39,2)	37,2 (34,8; 38,9)	39,1 (38,3; 40,2)	0,014 0,035
Своевременные роды**	35 (97,2)	16 (72,7)	18 (94,7)	7 (87,5)	83 (92,2)	
Поздние преждевременные роды**	1 (2,8)	6 (27,3)	1 (5,3)	1 (12,5)	7 (7,8)	0,020
Самопроизвольные роды**	16 (44,4)	6 (27,3)	11 (57,9)	4 (50,0)	54 (60,0)	0,056
Плановое кесарево сечение**	13 (65,0)	8 (50,0)	4 (50,0)	2 (50,0)	24 (66,7)	0,746
Экстренное кесарево сечение**	7 (35,0)	8 (50,0)	4 (50,0)	2 (50,0)	12 (33,3)	0,264
Примечания:	*Данные представлены в виде медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1 – Q3); U-критерий Манна-Уитни. **Данные представлены как абсолютные значения и % соотношение; χ^2 - тест. Межгрупповой анализ: Средний срок родоразрешения: IB-III – $p=0,014$, IIB-III – $p=0,035$ Поздние преждевременные роды: IB-III – $p=0,020$					

Наиболее частыми показаниями к плановому оперативному родоразрешению у беременных с ГСД явились наличие крупного плода и старший репродуктивный возраст в дополнении сочетанной патологией. Следует отметить, что наличие крупного плода как показание к операции кесарева сечения чаще отмечалось в группе раннего ГСД по сравнению с пациентками с нормогликемией (16,7%, $p=0,032$).

Анализ особенностей течения раннего неонатального периода новорожденных у обследованных показал, что родовой травматизм (кефалогематома и перелом ключицы) статистически значимо чаще наблюдался у детей, рожденных от матерей с ранним ГСД ($p=0,042$ и $p=0,005$, соответственно) (рис. 7). Такое осложнение раннего неонатального периода как РДС достоверно чаще наблюдалось в подгруппе IB по сравнению с группой III ($p=0,011$). При раннем неонатальном обследовании внутрижелудочковое кровоизлияние выявлено у 22,2% ($p=0,012$) детей, рожденных от матерей подгруппы IIА, 18,2% - подгруппы IB, что было статистически значимым различием ($p=0,026$).

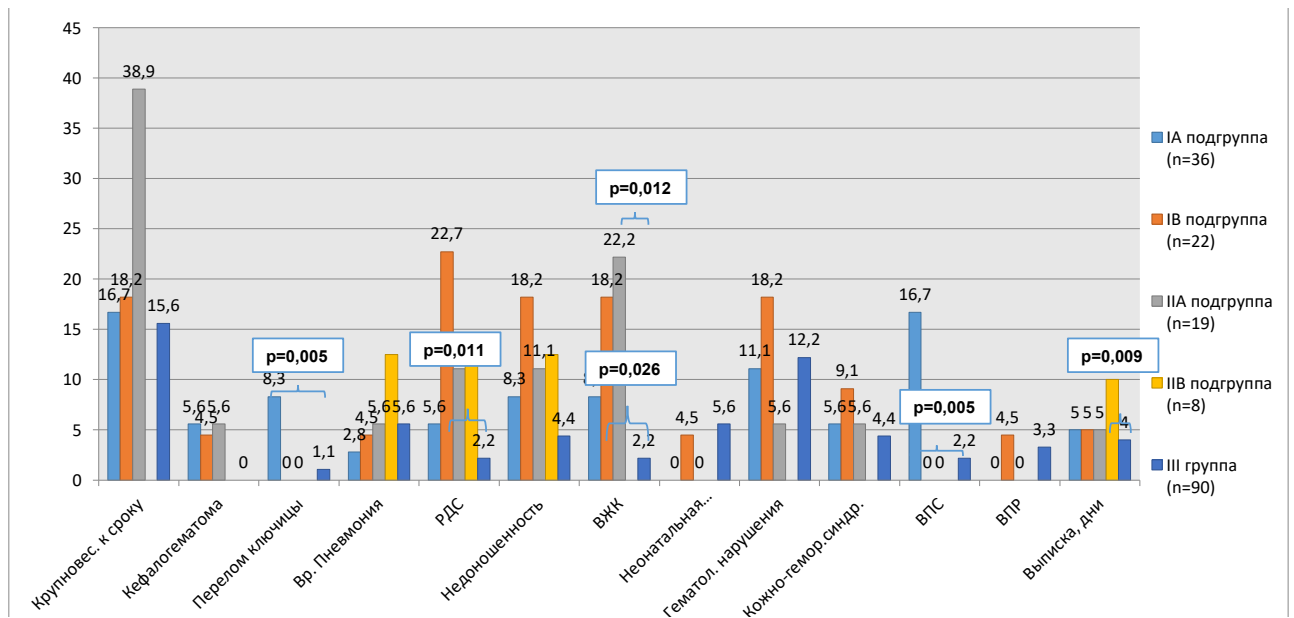


Рис.7. Неонатальная заболеваемость

Следующим этапом нашей работы была оценка возможности связи ультразвуковых размеров плода во втором триместре с развитием ГСД. Обращает на себя внимание тот факт, что уже с 18-20 недель пациентки I группы имели более высокую предполагаемую массу плода (318,50 (283,50; 373,25) г), чем во II и III группах ($p=0,153$). ОЖ у плодов I группы превышала таковую у плодов III группы уже в 18-20 недель беременности (150,00 (138,90; 158,82) и 144,00 (137,40; 152,62) соответственно), что было статистически значимо ($p=0,047$). У плодов беременных с ранним ГСД длина бедра статистически значимо превышала таковую у плодов группы сравнения ($p=0,030$): у плодов беременных с поздним ГСД соответствовала таковой у плодов группы контроля (30,31 (2,23) мм и 30,44 (2,71) мм соответственно). Что касается коэффициента асимметричности БПР/ДлБ, мы обнаружили, что группа пациентов с ранним ГСД имела более низкое среднее значение, чем группа сравнения, что было статистически значимым ($p=0,007$).

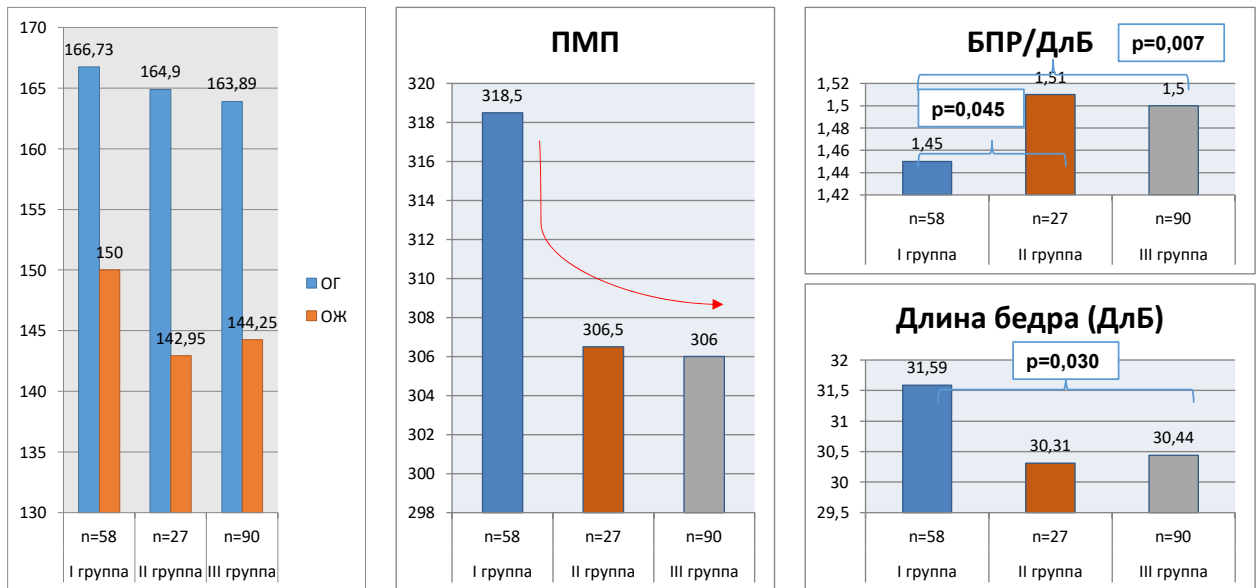


Рис. 8. Сравнение антропометрических измерений плодов в 18-20 недель

Измерение антропометрических размеров плода является важным показателем в ведении ГСД. Крупновесные для срока гестации плоды могут быть результатом неадекватно лечения ГСД. Однако слишком агрессивный контроль уровня глюкозы является возможной причиной для развития маловесных плодов. Следовательно, преимущества строгого контроля уровня глюкозы должны быть сбалансированы с рисками и строгий контроль уровня глюкозы может не подходить для всех женщин с ГСД. На рисунке 9 представлены графики динамики предполагаемой массы тела плодов. С момента назначения инсулинотерапии отмечалось снижение темпов роста плодов, что особенно видно на правой половине слайда. В группе с поздним ГСД выраженное снижение роста отмечается в 30-31 неделю, в группе раннего ГСД – в 26 недель, и ПМП не соответствует нормальным значениям.

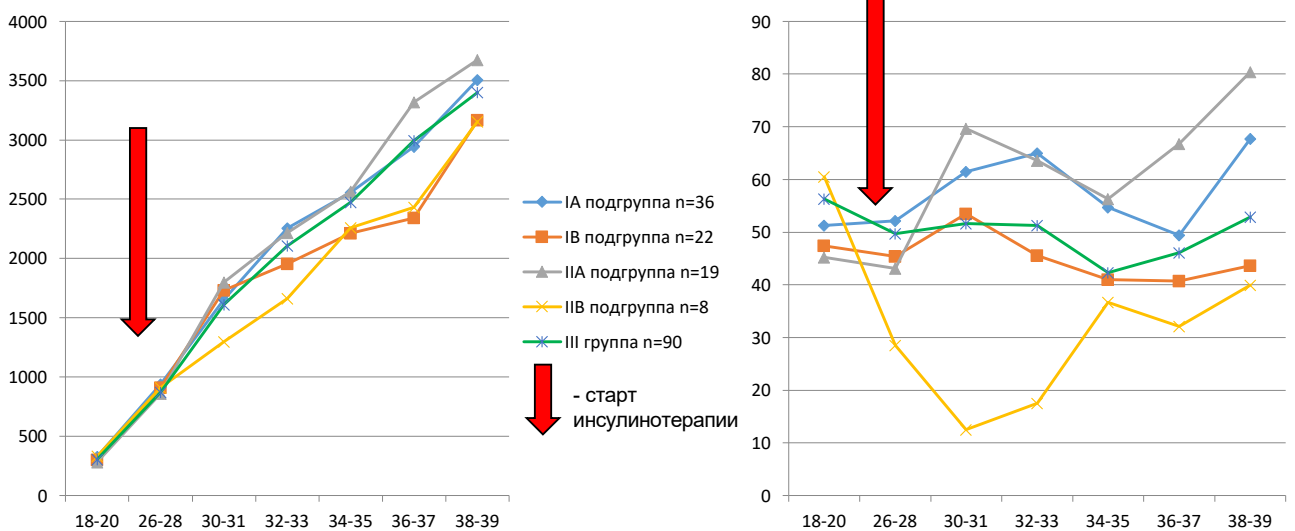


Рис. 9. Динамика предполагаемой массы тела плодов

*Роль внеклеточных везикул плазмы как предикторов ГСД
в первом триместре беременности*

Мы предполагаем, что эффективность раннего выявления ГСД может быть улучшена с использованием дополнительных биомаркеров, таких как ВВ. Поэтому следующим этапом нашей работы было решено провести изучение особенностей состава и количества ВВ в плазме крови в I триместре беременности и оценить их способность к ранней предикции ГСД. Был проведен проспективный анализ, в который включены 45 беременных из общего числа пациенток, включенных в исследование. По результатам ПГТТ беременные были разделены на 2 группы: 20 пациенток с ГСД (основная группа) и 25 пациенток с нормогликемией (группа сравнения), что явилось критериями включения в исследование. Срок беременности на момент забора венозной крови составил $12,9 \pm 1,9$ недель. Чтобы оценить, были ли различия ВВ, полученных из материнской плазмы в первом триместре беременности, между исследуемыми группами, было проанализировано распределение ВВ по размерам, полученным с помощью центрифугирования. Анализ NTA показал отсутствие значительных различий средних размеров везикул между группами (92 (84, 101) нм для контроля и 92 (85, 103) для пациенток с ГСД). Однако, концентрация ВВ была значительно выше у пациенток, у которых впоследствии развился ГСД, по сравнению с «нормогликемическими» беременными (табл. 4).

Таблица 4. - Анализ среднего размера и концентрации везикул в зависимости от гликемического статуса

Параметр	N	I группа ГСД N = 20 ¹	II группа сравнения N = 25 ¹	p-value ²
Концентрация везикул, 10 ¹¹ част/мл	45	5.93 (3.24, 7.24)	2.54 (1.99, 3.55)	0.003
Средний размер, нм	45	92 (85, 103)	92 (84, 101)	0.7
¹ Median (IQR)				
² Wilcoxon rank sum exact test				

Чтобы оценить диагностическую точность использования концентрации ВВ в качестве биомаркера для раннего прогнозирования ГСД, был проведен ROC-анализ. При оценке зависимости вероятности развития ГСД от концентрации ВВ плазмы с помощью ROC-анализа была получена кривая (рис. 10). Площадь под ROC-кривой составила $0,813 \pm 0,080$ с 95% ДИ: $0,657 - 0,970$. Полученная модель была статистически значимой ($p=0,003$). Чувствительность и специфичность модели составили 80,0 и 66,7%, соответственно.

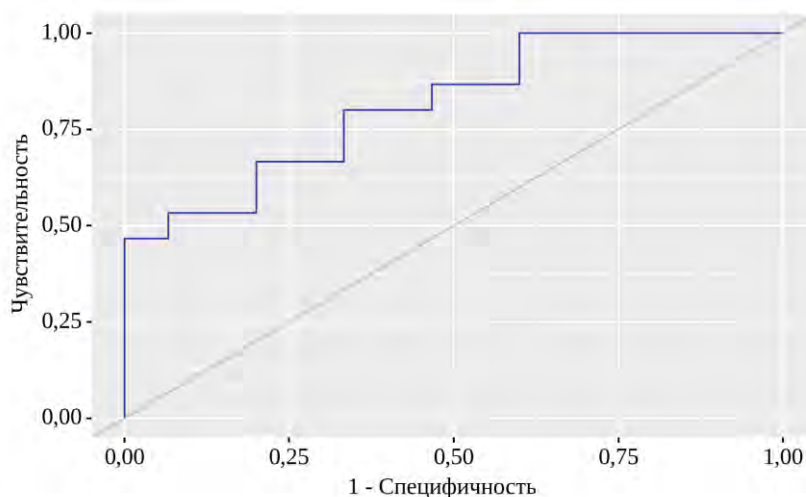


Рис. 10. ROC-кривая прогнозирования гестационного сахарного диабета в зависимости от количества внеклеточных везикул плазмы

Полученные данные свидетельствуют о том, что в 11–14 недель женщины, у которых в последствие в течение беременности развивается ГСД, имеют значительно более высокие концентрации ВВ, чем женщины группы сравнения (с нормогликемией). Вместе с тем, несмотря на полученные оптимистичные и многообещающие результаты, требуются дальнейшие исследования. В первую очередь, потому что прогнозирование ГСД в ранние сроки беременности на основании количества ВВ не имеет высокой специфичности. В связи с этим весьма перспективным представляется исследование содержимого ВВ, в частности, анализ профиля микроРНК.

МикроРНК-сигнатура в ранней диагностике ГСД

Следующей нашей задачей было проанализировать уровень экспрессии мкРНК в плазме периферической крови женщин с нормогликемией и с ГСД на 11-14 неделе с целью идентификации молекул, обладающих диагностической значимостью в выявлении ГСД на ранних сроках беременности. Общая численность выборки пациенток составила 48 человек: 34 женщины с нормогликемией и 14 - с ГСД. Скрининг молекул мкРНК осуществляли в несколько этапов с использованием различных алгоритмов и методов. На первом этапе исследования было проведено глубокое секвенирование мкРНК в 24 образцах плазмы крови пациенток, выбранных случайным образом из всей собранной коллекции, включающих по 12 образцов из каждой группы. Была построена модель дискриминантного анализа с частичной регрессией наименьших квадратов (PLS-DA) (рис. 11). Можно видеть два четко сформированных кластера: первый кластер (выделен красным цветом) представлен образцами группы сравнения и второй кластер (выделен черным цветом) представлен образцами группы пациенток с ГСД.

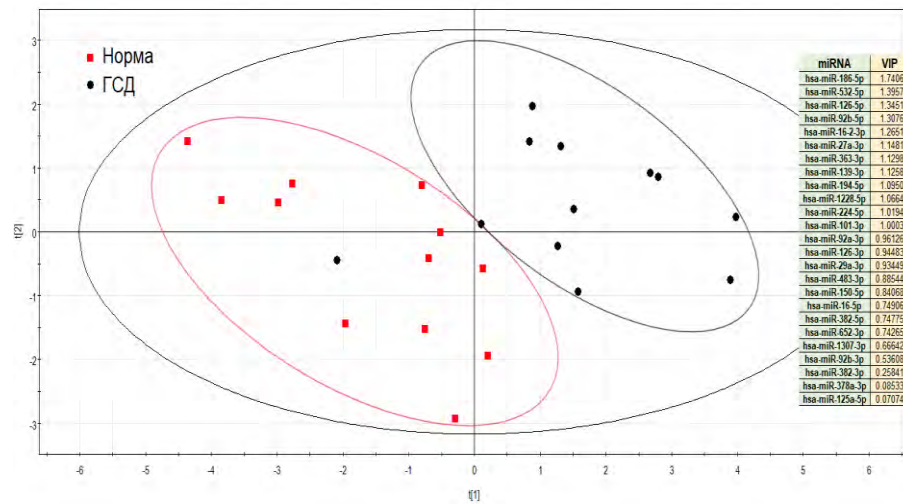


Рис. 11. Распределение образцов периферической крови пациенток по уровню экспрессии мкРНК при построении модели PLS-DA

Другим способом скрининга мкРНК для идентификации молекул с потенциальной диагностической значимостью при использовании всего массива данных глубокого секвенирования явился метод корреляционного анализа по Спирмену. Выявлены статистически значимые корреляции уровня экспрессии 43 мкРНК с показателями, как минимум, одной из временных точек проведения ПГТТ и уровня глюкозы натощак при первом обращении (табл. 5).

Таблица 5. - Корреляционный анализ данных глубокого секвенирования с уровнем глюкозы в крови беременных в первом триместре беременности

мкРНК	Глюкоза натощак при первом обращении		1 проба ПГТТ-1		2 проба ПГТТ-1		3 проба ПГТТ-1	
	p-value	R	p-value	R	p-value	R	p-value	R
hsa-miR-4732-3p	0.3857	-0.19	0.2079	-0.27	0.0788	-0.37	0.0083	-0.53
hsa-miR-126-5p	0.0586	0.39	0.0551	0.4	0.0042	0.56	0.0154	0.49
hsa-miR-127-3p	0.0961	0.35	0.5825	0.12	0.0694	0.38	0.0215	0.47
hsa-miR-342-3p	0.8216	0.05	0.7934	0.06	0.1281	0.32	0.0218	0.47
hsa-miR-93-5p	0.3891	0.18	0.6329	0.1	0.3205	0.21	0.0243	0.46
hsa-miR-2110	0.591	-0.12	0.0961	-0.35	0.0035	-0.57	0.0319	-0.44
hsa-miR-183-5p	0.028	-0.45	0.3559	-0.2	0.0188	-0.48	0.0343	-0.43
hsa-miR-409-3p	0.0318	0.44	0.6084	0.11	0.0666	0.38	0.0383	0.43
hsa-miR-769-5p	0.1949	0.27	0.6893	-0.09	0.3978	0.18	0.0433	0.42
hsa-miR-134-5p	0.0879	0.36	0.4994	0.14	0.1646	0.29	0.0443	0.41
hsa-miR-532-5p	0.0078	-0.53	0.1496	-0.3	0.0042	-0.56	0.0492	-0.41
hsa-miR-432-5p	0.2915	0.22	0.784	0.06	0.1099	0.33	0.0542	0.4
hsa-miR-16-2-3p	0.2767	-0.23	0.3356	-0.21	0.0087	-0.52	0.0562	-0.39
hsa-miR-483-3p	0.7747	0.06	0.6505	0.1	0.0614	0.39	0.0565	0.39
hsa-miR-139-3p	0.0574	0.39	0.4986	0.15	0.0799	0.36	0.0573	0.39
hsa-miR-206	0.0316	0.44	0.6572	0.1	0.1565	0.3	0.0891	0.35
hsa-miR-493-3p	0.0495	0.41	0.4739	0.15	0.2178	0.26	0.1178	0.33
hsa-miR-455-5p	0.0501	0.4	0.6253	0.11	0.4436	0.16	0.1232	0.32
hsa-miR-760	0.0264	0.45	0.5741	0.12	0.1359	0.31	0.1314	0.32
hsa-miR-101-3p	0.0185	-0.48	0.0632	-0.39	0.1613	-0.3	0.1451	-0.31
hsa-miR-451a	0.0229	-0.46	0.3505	-0.2	0.1549	-0.3	0.1457	-0.31
hsa-miR-92b-5p	0.0161	-0.49	0.0784	-0.37	0.0714	-0.37	0.1543	-0.3
hsa-miR-126-3p	0.1947	0.27	0.1331	0.32	0.0378	0.43	0.1864	0.28
hsa-miR-224-5p	0.0196	0.47	0.0993	0.34	0.215	0.26	0.2111	0.26
hsa-miR-223-3p	0.6532	0.1	0.5105	0.14	0.047	0.41	0.2157	0.26
hsa-miR-3615	0.1487	-0.3	0.0405	-0.42	0.0633	-0.38	0.2173	-0.26
hsa-miR-382-5p	0.047	0.41	0.7552	0.07	0.2783	0.23	0.2424	0.25
hsa-miR-1307-3p	0.0504	0.4	0.4429	0.16	0.3671	0.19	0.2515	0.24
hsa-miR-320c	0.1115	0.33	0.5815	0.12	0.0565	0.39	0.337	0.2
hsa-miR-30a-3p	0.2776	0.23	0.0498	0.4	0.287	0.23	0.3454	0.2
hsa-miR-222-3p	7.00E-04	0.65	0.163	0.29	0.4663	0.16	0.3476	0.2
hsa-miR-15b-5p	0	-0.76	0.1616	-0.3	0.0491	-0.41	0.47	-0.15
hsa-miR-363-3p	0.011	-0.51	0.3986	-0.18	0.1672	-0.29	0.497	-0.15
hsa-miR-27a-3p	0.0457	0.41	0.1221	0.32	0.1475	0.3	0.6551	0.1
hsa-miR-140-5p	0.014	0.49	0.1104	0.33	0.7394	0.07	0.8025	-0.05
hsa-miR-28-3p	0.0553	0.4	0.5857	0.12	0.5246	0.14	0.9149	0.02
hsa-miR-218-5p	0.0449	0.41	0.4322	0.17	0.82	0.05	0.927	0.02
hsa-miR-486-5p	0.0567	-0.39	0.0255	-0.45	0.0953	-0.35	0.9373	-0.02
hsa-miR-320d	0.0053	0.55	0.1269	0.32	0.1893	0.28	0.9646	0.01
hsa-miR-378a-3p	0.2186	-0.26	0.7873	-0.06	0.6609	-0.09	0.0548	-0.32

Вторым этапом нашего исследования было проведение анализа уровня экспрессии мкРНК методом количественной ОТ-ПЦР в 48 образцах плазмы крови пациенток с ГСД и без ГСД на 11-14 неделе, выбранных на предыдущем этапе анализа данных глубокого секвенирования мкРНК. Сравнение уровня экспрессии мкРНК в образцах двух групп пациенток относительно эндогенной референсной мкРНК hsa-miR-1037-3p выполняли методом $\Delta\Delta Ct$. На основании полученных значений (ΔCt) для каждой мкРНК были разработаны различные варианты моделей логистической регрессии для расчета

вероятности наличия у пациентки ГСД. Точность прогнозирования ГСД у беременных (88%) выше, а доля ложноотрицательных результатов (29%) ниже в случае использования комбинации miR-16-5p, miR-1307-3p, miR-652-3p, miR-382-5p, miR-378a-3p в сравнении с данными параметрами моделей, построенных по уровню глюкозы натощак или при проведении ПГТТ (рис. 12).

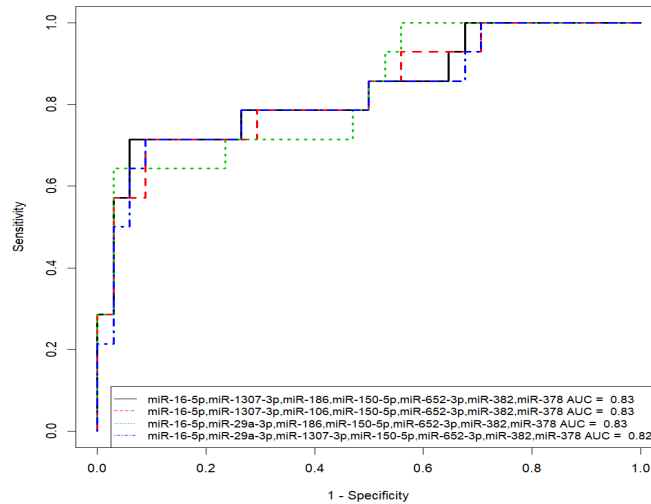


Рис. 12. Модель логистической регрессии для расчета вероятности наличия ГСД у беременной на 11-14 неделе гестации по профилю экспрессии мкРНК в плазме периферической крови

При построении моделей логистической регрессии для расчета вероятности наличия ГСД у беременной на 11-14 неделе гестации при сочетанном определении глюкозы натощак и различных комбинаций мкРНК выявлено значительное улучшение прогностической ценности полученных моделей, а именно: повышение точности прогнозирования до 96%, повышения доли истинно положительных результатов до 93% и снижения доли ложноотрицательных результатов до 7% (рис. 13).

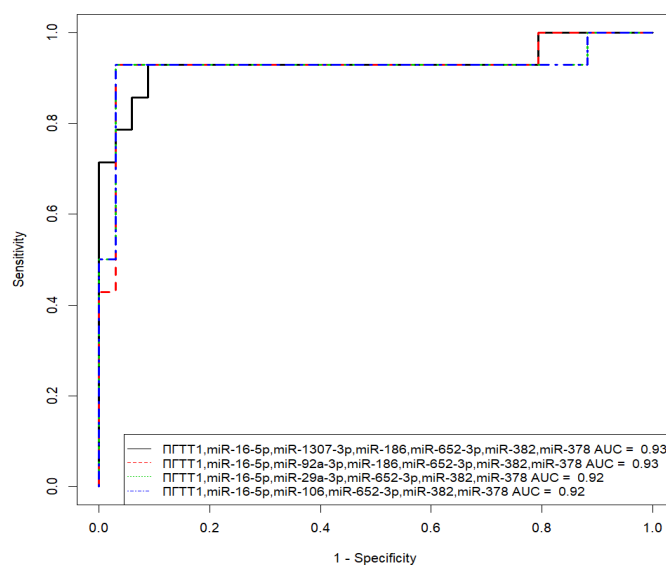


Рис. 13. Модели логистической регрессии для расчета вероятности наличия ГСД у беременной на 11-14 неделе гестации по сочетанному определению уровня глюкозы и мкРНК в плазме периферической крови

Кроме того, нами было выявлено, что все молекулы мкРНК, участвующие в построении моделей логистической регрессии для диагностики ГСД на 11-14 неделях, циркулируют в периферической крови пациенток в составе ВВ. Методом ПЦР была проведена количественная оценка данных мкРНК в везикулярной фракции шести образцов плазмы крови беременных (три образца от женщин с нормогликемией и три образца от женщин с ГСД). Был использован метод частичной регрессии наименьших квадратов (PLS). Образцы были ранжированы в зависимости от наличия или отсутствия ГСД. На рисунке 14 представлены графики счетов. Образцы ВВ плазмы крови женщин с нормогликемией (красные квадраты) сгруппировались вместе и имеют значения первой компоненты в диапазоне от -0,5 до 3 в отличие от образцов плазмы крови женщин с ГСД (черные точки), также формирующие кластер и имеющие значения первой компоненты в диапазоне от -1 до -2. Вклад мкРНК в возможность классификации образцов по наличию ГСД характеризуют значения параметра важности переменной в проекции (variable importance in projection - VIP). Наибольшее значение этого параметра имеют четыре мкРНК: miR-29a-3p, miR-150-5p, miR-186-5p, miR-92a-3p, а наименьшее – miR-652-3p. Таким образом, содержание miR-29a-3p, miR-150-5p, miR-186-5p и miR-92a-3p во ВВ плазмы периферической крови беременных отличается при нормогликемии во время беременности и при развитии ГСД,



Рис. 1. Графики счетов, построенные по результатам PLS анализа ОТ-ПЦР данных по относительному количеству 10 мкРНК в экзосомах плазмы крови пациенток на 11-14 неделе беременности

ВЫВОДЫ

1. Гестационный сахарный диабет ассоциирован со значительной трансгенерационной материнской и неонатальной заболеваемостью. Гипертензивные нарушения во время беременности, преждевременные роды, кесарево сечение были более распространены у женщин с ранней манифестацией ГСД. Макросомия, крупные размеры для гестационного возраста, родовой травматизм и более продолжительная госпитализация чаще наблюдались у новорожденных от матерей с ранним ГСД.
2. Значения глюкозы при более раннем проведении ПГТТ сопоставимы и достоверно не отличались от результатов перорального глюкозо-толерантного теста, проведенного в регламентированные сроки. У беременных высокого риска ГСД был выявлен в 57,2%, а среди них ранний ГСД развился в 72,0% случаев. Воспроизводимость теста составила 82,4%.
3. Концентрация внеклеточных везикул в 1 триместре беременности, выделенных из плазмы методом центрифугирования, значительно выше у пациенток с развившимся впоследствии ГСД, что может быть использовано в качестве предиктора развития данного осложнения беременности.
4. Данные фетометрии у беременных с ранним ГСД, выполненные в динамике с 18-20 недель беременности, позволяют определить, как относительно более высокие массоростовые показатели, так и прирост массы тела, особенно это касается окружности живота и длины бедра. Обнаружено, что группа пациентов с ранним ГСД имела более низкое среднее значение коэффициента асимметричности бипариетальный размер/длина бедра (БПР/ДлБ).
5. Разработанная модель логистической регрессии для расчета вероятности наличия ГСД у беременных на 11-14 неделе беременности при сочетанном определении тощаковой гликемии и комбинации мкРНК (miR-16-5p, miR-92a-3p, miR-186, miR-652-3p, miR-382-5p, miR-378-3p) повышает точность прогнозирования ГСД до 96%, повышает долю истинно положительных результатов до 93% и снижает долю ложноотрицательных результатов до 7%.
6. У пациенток с ГСД на диетотерапии чаще наблюдались случаи макросомии и показания к кесареву сечению, а при родоразрешении через естественные родовые пути у новорожденных чаще наблюдались внутрижелудочковые кровоизлияния. У беременных с ГСД, получающих инсулинотерапию, новорожденные чаще были недоношенными и с низкой массой тела при рождении.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Определены факторы риска раннего ГСД: возраст ≥ 35 лет, избыточная исходная масса тела, хроническая артериальная гипертензия, наличие гестационного сахарного диабета

и рождения крупновесных детей в анамнезе. Пациентам высокого риска развития раннего ГСД показано проведение более раннего ПГТТ и дополнительное исследование внеклеточных везикул с целью подбора оптимальной терапии и снижения риска развития перинатальных осложнений.

2. УЗ-диагностика оценки антропометрических показателей плода с 18-20 недель беременности позволяет оптимизировать показания для инсулинотерапии с целью улучшения исходов беременности и поиска отклонений роста плода в целях ранней идентификации и начала вмешательства.
3. Для своевременного прогнозирования гестационного сахарного диабета в первой половине беременности и выбора рациональной терапии в комплексе обследования беременных целесообразно включить исследование внеклеточных везикул плазмы крови.
4. Определение уровня микроРНК позволит определить персонализированный подход к терапии ГСД. Рекомендуется определение комбинации микроРНК miR-16-5p, miR-92a-3p, miR-186, miR-652-3p, miR-382-5p, miR-378-3p в плазме крови на ранних сроках беременности для предикции развития ГСД.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Клинико-молекулярно-генетические детерминанты формирования гестационного сахарного диабета / Ходжаева З.С., Снеткова Н.В., Клименченко Н.И., **Абрамова М.Е.**, Дегтярева Е.И., Донников А.Е. // **Акушерство и гинекология**. – 2019. - № 4. – С. 18-24.
2. Особенности течения беременности у женщин с гестационным сахарным диабетом / Ходжаева З.С., Снеткова Н.В., Муминова К.Т., Горина К.А., **Абрамова М.Е.**, Есяян Р.М. // **Акушерство и гинекология**. – 2020. - № 7. – С. 47-52.
3. Возможности прогнозирования назначения инсулинотерапии при гестационном сахарном диабете по результатам перорального глюкозо-толерантного теста / Ходжаева З.С., Снеткова Н.В., Муминова К.Т., **Абрамова М.Е.**, Есяян Р.М. // **Мать и дитя: материалы XXI Всероссийского научно-образовательного форума: Москва, 2020.** – С. 48-49.
4. Гестационный сахарный диабет: скрининг и диагностические критерии в ранние сроки беременности / **Абрамова М.Е.**, Ходжаева З.С., Горина К.А., Муминова К.Т., Горюнов К.В., Рагозин А.К., Силачев Д.Н. // **Акушерство и гинекология**. – 2021. - № 5. – С. 25-32.
5. Роль внеклеточных везикул плазмы как предикторов гестационного сахарного диабета в первом триместре беременности / Ходжаева З.С., **Абрамова М.Е.**, Муминова К.М., Горина К.А., Фролова Е.Р., Горюнов К.В., Силачев Д.Н., Шевцова Ю.А. // **Акушерство и гинекология**. – 2022. - № 4. – С. 76-83.

Приложение 1
АЛГОРИТМ ВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОК С ГСД

