

**Министерство здравоохранения Российской Федерации
федеральное государственное бюджетное учреждение
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ И ПЕРИНАТОЛОГИИ
ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И. КУЛАКОВА»**

На правах рукописи

**АБРАМОВА
Мария Евгеньевна**

**ОПТИМИЗАЦИЯ ТАКТИКИ ВЕДЕНИЯ БЕРЕМЕННЫХ С
ГЕСТАЦИОННЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ**

3.1.4. Акушерство и гинекология

**Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Научные руководители:

**доктор медицинских наук, профессор
Ходжаева З.С.
доктор биологических наук
Силачев Д.Н.**

Москва 2023

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	15
1.1. Эпидемиология и диагностические критерии ГСД.....	15
1.2. Пациенты высокого риска ГСД.....	16
1.3. Патофизиология ГСД.....	18
1.4. Осложнения ГСД.....	19
1.5. Методы раннего скрининга и диагностики ГСД	21
1.5.1. Внеклеточные везикулы как предикторы ГСД.....	28
1.5.2. Роль микроРНК при ГСД.....	34
1.5.3. УЗ-фетометрия и ГСД.....	38
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	41
2.1. Материалы исследования.....	41
2.1.1. Дизайн исследования.....	41
2.1.2. Критерии включения в исследование.....	43
2.2. Методы исследования.....	45
2.2.1. Общеклинические методы исследования.....	46
2.2.2. Функциональные методы исследования	49
2.2.3. Специальные методы исследования.....	51
2.2.4. Анализ течения неонатального периода у новорожденных.....	54
2.2.5. Статистическая обработка полученных результатов	54
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	56
3.1. Клиническая характеристика пациенток во время беременности.....	56

3.1.1. Клинико-anamнестическая характеристика обследованных женщин	56
3.1.2. Особенности течения беременности у пациенток с ГСД.....	65
3.1.3. Исходы родов, течение послеродового и раннего неонатального периодов	70
3.2. Пероральный глюкозо-толерантный тест в 1 триместре беременности.....	79
3.3. Ультразвуковые маркеры прогнозирования гестационного сахарного диабета	84
3.3.1. Ультразвуковые предикторы гестационного сахарного диабета при проведении пренатального скрининга II триместра	84
3.3.2. Динамика роста плодов по данным УЗ-фетометрии	86
3.4. Роль внеклеточных везикул плазмы как ранних предикторов ГСД.....	89
3.5. МикроРНК-сигнатура в ранней диагностике гестационного сахарного диабета	94
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	108
ВЫВОДЫ.....	123
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	125
Список сокращений	126
Список литературы	128
Приложение	146

ВВЕДЕНИЕ

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) [1]. ГСД – гетерогенная группа заболеваний, впервые выявленных во время беременности и характеризующихся гипергликемией, не соответствующей критериям манифестного сахарного диабета (СД) [2]. 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 («метаболическое программирование»), включая ожирение, метаболический синдром, СД 2-го типа, артериальную гипертензию [3, 4, 5].

Согласно данным Государственного регистра СД, распространенность ГСД в России составляет 8-9%, в то же время, по данным международных исследований, около 17% всех беременностей осложняется ГСД, и наблюдается тенденция к росту заболевания [6].

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 (ВОЗ) [7]. Однако следует отметить, что критерии ГСД приняты на основании Консенсуса, а не на основании доказательных исследований, что ведет, по мнению специалистов, к гипердиагностике заболевания. Так, в последнее время появились публикации относительно правомерности критериев ГСД (старт диагноза при уровне гликемии ≥ 5.1 ммоль/л) для беременных [8]. В связи с этим исследователи подчеркивают необходимость пересмотра пороговых

значений гликемии для критериев диагноза ГСД, которые не могут быть едиными для всех женщин независимо от расово-этнических различий, географических зон проживания и т.д. [9]. 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.

Определение уровня гликемии в первом триместре беременности, мониторинг динамики гликемии в процессе беременности и контроль за фетометрическими параметрами и функциональным состоянием плода в зависимости от степени изменения уровня глюкозы в венозной плазме требуют детального изучения [10].

В настоящее время 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. Внеклеточные везикулы активно секретируются всеми типами клеток во внеклеточное пространство и присутствуют во многих биологических жидкостях, включая плазму, сыворотку, амниотическую жидкость, мочу и грудное молоко [11]. Исследования показали, что концентрация ВВ в плазме выше у нормальных беременных, чем у небеременных женщин [12]. А позднее было продемонстрировано двухкратное повышение содержания ВВ плаценты в крови у женщин с ГСД по сравнению с таковыми при нормальной беременности [13], 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 (превышение более 90 перцентилей предполагаемой массы плода относительно срока гестации). Однако в литературе, в основном, имеются исследования, проведенные в третьем триместре [14]. Так, было обнаружено, что экономически эффективным способом стратификации беременностей с ГСД с очень высоким риском неонатальной заболеваемости является УЗИ в третьем триместре, поскольку увеличенная окружность живота и предполагаемая масса плода (ПМП) в начале третьего триместра являются прогностическими факторами развития крупного плода [15]. В настоящее время существуют ограниченные данные о связи ПМП с ГСД во втором триместре беременности. Результаты исследования, проведенного в США, предполагают роль еще более раннего выявления пациентов с высоким риском развития ГСД и макросомии на основе ПМП более 90 перцентилей при УЗИ во втором триместре (18-22 недели беременности), что может повлиять на ведение беременности за счет выявления пациентов, которым необходим более ранний скрининг ГСД и последующее более раннее вмешательство, а также серийная оценка темпов роста плода [16].

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 [17]. Разработанные критерии перорального теста на толерантность к глюкозе (ПГТТ) были направлены на диагностику диабета матери или прогнозирование перинатальных исходов [18]. Тем не менее, глобального консенсуса в отношении наиболее подходящей стратегии скрининга ГСД достигнуто не было, и существующая практика варьируется между странами [19].

В последнее десятилетие внеклеточные везикулы были признаны важным медиатором межклеточной коммуникации, регулирующей биологические процессы на клетках-мишенях [20].

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 клинико-anamnestическим 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 повышение точности прогнозирования до 96%.

Теоретическая и практическая значимость работы

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 и определить группу пациентов с низким риском его развития.

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.

Методология и методы исследования

Работа проведена в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (директор – профессор, академик РАН Г.Т. Сухих). Клиническая часть работы выполнена в 1-м отделении акушерском патологии беременности (заведующая – к.м.н. К.А. Гладкова), во 2-м отделении

акушерском патологии беременности (заведующая – д.м.н. Н.К. Тетруашвили), научно-поликлиническом отделении (заведующая – д.м.н., профессор В.Н. Прилепская). Специальные лабораторные методы исследования: выделение внеклеточных везикул с использованием метода центрифугирования и анализа траекторий наночастиц образцов плазмы крови выполнены в лаборатории клеточных технологий (заведующий – д.б.н. Д.Н. Силачев), метод анализа уровня экспрессии микроРНК в плазме крови - количественная ПЦР в реальном времени в лаборатории прикладной транскриптомики отдела системной биологии в репродукции (заведующая - к.б.н. Тимофеева А.В.). Исследование проводилось с сентября 2019 года по декабрь 2021 года.

В исследование было включено 175 беременных, наблюдавшихся в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Перед участием в исследовании беременные подписывали добровольное информированное согласие. Комиссией по этике биомедицинских исследований Центра был одобрен протокол проведения данного исследования (№8 от 31.10.2019).

Обследование пациенток проводилось в соответствии с приказом Минздрава России №107н от 01.11.2012г. и приказом Минздрава России №1130н от 20.10.2020г. "Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология» (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)". В работе применены современные методы обследования пациентов: клинические (детальный сбор анамнеза, общий и акушерско-гинекологический осмотры), клинико-лабораторные (клинический анализ крови, биохимический анализ крови с определением уровня гликозилированного гемоглобина, гемостазиограмма, общий анализ мочи, пероральный глюкозотолерантный тест), инструментальные (ультразвуковое

исследование плода – фетометрия). Специальные методы указаны выше в данном разделе (более подробно описаны в разделы материалы и методы).

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.

Степень достоверности результатов исследования

Достоверность данных исследования подтверждается количеством пациенток, включенных в исследование (175), а также использованными современными методами обследования и статистической обработки данных.

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 поликлинических 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, рекомендуемых ВАК РФ.

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.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Эпидемиология и диагностические критерии ГСД

Гестационный сахарный диабет (ГСД) представляет собой одно из наиболее частых эндокринных нарушений у беременных женщин, характеризуется нарушением толерантности к глюкозе в результате дисфункции β -клеток поджелудочной железы матери, что приводит к недостаточности инсулина для регулирования гомеостаза глюкозы во время беременности [21]. Ежегодно отмечается увеличение числа беременных с ГСД, что связано, как с принятыми консенсусно значениями гликемии, так и пандемией ожирения, а также развитием СД 2 типа [22, 23, 24]. Так, согласно данным Международной федерации диабета (International Diabetes Federation, IDF), 21,3 миллиона (16,2%) детей, рождённых в 2017 году, во внутриутробном периоде развития подверглись воздействию гипергликемии, в 86,4% случаев обусловленной ГСД. Ожидаемый прирост женщин репродуктивного возраста с нарушениями углеводного обмена в ближайшее десятилетие составляет более 58% [1]. В мире эта патология встречается почти у 13% беременных [25], т.е. более чем каждая седьмая беременность осложняется развитием ГСД [26]. Средняя распространенность ГСД варьирует в зависимости от климатогеографического региона проживания и колеблется от 12,9% на Ближнем Востоке, около 11% в Юго-Восточной Азии, Западной части Тихого океана, Южной и Центральной Америке и до 5,8% - в разных регионах Европы [27]. Следует особо отметить, что помимо этнического происхождения, на существенные различия в распространенности ГСД в каждой стране влияют разные критерии скрининга и диагностики [27].

Под термином ГСД уже достаточно длительное время подразумевается заболевание, характеризующееся гипергликемией, впервые выявленной во время беременности, но не соответствующей критериям «манифестного» СД [2]. Тем не менее, в настоящее время разными профессиональными медицинскими ассоциациями приняты несколько различающиеся пороговые

значения гликемии для диагноза ГСД. Так, зарубежные ассоциации (ACOG – the American College of Obstetricians and Gynecologists [28], JCOG – the Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada [29], Finnish Medical Society Duodecim [30], ADA – American Diabetes Association [31]) для диагностики ГСД считают значение уровня тощачковой глюкозы в венозной плазме $\geq 5,3$ ммоль/л; отечественные рекомендации к пороговым значениям глюкозы плазмы натощак относят уровни $\geq 5,1$ ммоль/л. Порогом отсечки для диагностики ГСД по рекомендациям Национального института здоровья и клинического совершенствования (The National Institute for Health and Care Excellence, NICE) был выбран уровень глюкозы в плазме крови $\geq 5,6$ ммоль/л. Этим объясняется достаточно сильный разброс частоты распространенности ГСД, которая согласно данным мировой литературы, колеблется от 2,0 до 37,0% от общего числа беременностей, и в большей степени зависит от используемых методов исследования по выявлению гипергликемии, изучаемой популяции, индекса массы тела (ИМТ), возраста, распространенности СД 2 типа в отдельных этнических группах [1, 32, 33]. Согласно данным Государственного регистра СД, распространенность ГСД в России составляет 8–9%, в то время как, по данным международных исследований около 17% всех беременностей осложняется ГСД, и наблюдается тенденция к росту заболеваемости [6]. Установлено, что рост заболеваемости ГСД происходит параллельно с ростом СД, темпы роста которого, однако, превышают темпы роста ГСД [30].

1.2. Пациенты высокого риска ГСД

Выделен ряд факторов риска ГСД, которые в целом сходны с факторами, ассоциированными с развитием СД 2 типа, они включают возраст матери, ожирение, этническое происхождение, генетическую предрасположенность, случаи выявления ГСД при предыдущих беременностях [34, 35, 36]. Кроме этого, выделяют и другие факторы риска, такие как, крупный вес детей при рождении при предыдущих беременностях,

неблагоприятный исход предыдущей беременности, глюкозурия, многоводие или макросомия плода по данным ультразвукового скрининга при данной беременности [37, 38]. Также имеются экспериментальные и эпидемиологические исследования, о роли загрязнения воздуха как факторе риска развития ГСД, однако выводы авторов неоднозначны, и поэтому требуются дополнительные исследования [39]. Недавние исследования указывают на увеличение риска развития ГСД при нарушениях дыхания во время сна (храп, синдром обструктивного апноэ сна, гиповентиляция во время сна) [40]. Мужской пол плода ассоциирован с гипофункцией β -клеток, более высокой постпрандиальной гликемией и повышенным риском ГСД матери [41]. Также имеются данные, что не только курение беременных имеет значение, но и статус курения их родителей. История курения родителей была связана с повышенным риском ГСД среди их дочерей [42].

В дополнение к этим факторам риска накопленные данные эпидемиологических исследований показывают, что факторы питания и образа жизни, как до, так и во время беременности, связаны с риском развития ГСД. Традиционно пропаганда физической активности среди беременных вызывала споры, и тепло, выделяемое во время физической активности, считалось тератогенным для плода [43]. За последнее десятилетие данные как минимум семи обсервационных эпидемиологических исследований показали, что повышенная оздоровительная физическая активность до и/или во время беременности связана с более низким риском развития ГСД. В систематическом обзоре и мета-анализе пяти исследований, включающих 361 случай ГСД [44], оздоровительная физическая активность на ранних сроках беременности была связана со снижением риска ГСД более чем на 20% (ОШ=0,76 (95% ДИ=0,70-0,83)). Аналогичным образом, в мета-анализе семи исследований, включавших 34 929 женщин [44], физическая активность до беременности в среднем была связана со снижением риска ГСД более чем на 50% (ОШ=0,45 (95% ДИ=0,28-0,75)). Диетотерапия полезна для поддержания контроля

уровня глюкозы и физиологического здоровья [45]. Было показано, что пищевая терапия, такая как диета с высоким содержанием клетчатки и низким гликемическим индексом, улучшает чувствительность к инсулину и толерантность к глюкозе, что может снизить риск ГСД [46]. В последних исследованиях также было показано преимущество пробиотической терапии в повышении уровня глюкозы в крови за счет воздействия на микробиоту кишечника [47]. Климат также оказывает влияние на ГСД. В регионах с выраженными сезонными погодными изменениями распространенность ГСД выше, чем в более умеренных регионах мира [48]. Несколько исследований определили, что длительное воздействие психологического стресса связано с гипергликемией матери во время беременности, что может увеличить риск ГСД [49]. Продолжается активный поиск новых факторов риска ГСД [50].

1.3. Патофизиология ГСД

Патогенез развития ГСД многообразен и сложен. Клаасу Хеллерстрему приписывают раннюю работу, начатую в 1963 году, по изучению изменений поджелудочной железы во время беременности и лактации на модели мышей [51]. Потребность в инсулине физиологически возрастает во время беременности. Увеличение потребности в инсулине связано с повышенным потреблением калорий матерью, увеличением веса матери, наличием плацентарных гормонов, таких как плацентарный гормон роста и плацентарный лактоген, а также повышенной выработкой пролактина и гормона роста. По мере прогрессирования беременности масса β -клеток поджелудочной железы увеличивается.

Глюкоза матери транспортируется через плаценту к плоду, и этот перенос зависит от градиента концентрации между уровнями глюкозы плода и матери. В более позднем периоде беременности плод забирает все большее количество материнской глюкозы, что приводит к снижению уровня материнской глюкозы. Чтобы поддерживать градиент концентрации глюкозы через плаценту между матерью и плодом, увеличивается

инсулинорезистентность матери, а также продукция глюкозы печенью [52]. В свою очередь, β -клетки увеличивают секрецию инсулина, чтобы предотвратить чрезмерный перенос глюкозы к плоду.

1.4. Осложнения ГСД

ГСД характеризуется гипергликемией, диагностированной во время беременности, вызванной или усугубленной различными механизмами, такими как генетическая предрасположенность, резистентность к инсулину и хроническое воспаление. Хотя это состояние обычно носит преходящий характер, оно является фактором риска развития СД 2 типа в более позднем возрасте, а также может привести к долгосрочным неблагоприятным последствиям как для матери, так и для потомства.

При ГСД гипергликемия оказывает повреждающее действие на эндотелиальные клетки, что может привести к сосудистой дисфункции [53], связанной с артериальной гипертензией [54]. В связи с этим было высказано предположение о том, что ГСД увеличивает частоту гипертензии во время беременности и в послеродовом периоде [55]. Как диабет, так и гипертония являются факторами риска развития преэклампсии, частота которого колеблется от 2% до 8% всех беременностей [56]. Кроме того, у женщин с ГСД во время предыдущих беременностей, может наблюдаться рецидив ГСД при последующих беременностях [57].

Развивающийся плод имеет ограниченную способность производить глюкозу; поэтому большую часть глюкозы он получает из материнской крови. Материнская глюкоза проникает через плаценту, а материнский инсулин - нет. В результате, согласно модифицированной гипотезе Педерсена, если уровни глюкозы у матери высокие и неконтролируемые, избыток глюкозы, транспортируемый через плаценту, вызывает повышенную продукцию инсулина плода независимо от стимуляции глюкозой [58, 59]. Инсулин может стимулировать протеинкиназу mTOR, мощный регулятор клеточного роста [60]. Повышение активности плацентарного mTOR из-за

увеличения материнского инсулина приводит к усилению клеточной пролиферации и транспорта питательных веществ к плоду через транспортеры аминокислот системы А и системы L в плаценте [61]. Из-за вышеупомянутых факторов, наблюдаемых при ГСД, материнская гипергликемия и гиперинсулинемия могут привести к аналогичным изменениям у плода [62], что может способствовать неонатальному ожирению [63]. Избыточное накопление питательных веществ приводит к увеличению размера новорожденного при рождении или к макросомии. От 15% до 45% новорожденных от матерей с ГСД рождаются с макросомией [58], при этом большая часть жировых отложений концентрируется вокруг живота и плеч плода, что увеличивает риск дистоции плечиков и родовой травмы [64]. Наличие ГСД в сочетании с другими факторами риска, такими как гипертония и ожирение во время беременности, также может привести к преждевременным родам [65], распространенность которых достигает около 10,6% во всем мире [66].

Неонатальные осложнения включают возможную асфиксию, гипогликемию, неонатальную желтуху, бактериальные инфекции, неонатальный респираторный дистресс-синдром и родовую травму, включая дистоцию плечиков и повреждение плечевого сплетения [58]. Неонатальная гипогликемия возникает в результате резкого прекращения материнского источника глюкозы при рождении [67]. Это усугубляется гиперинсулинемией плода из-за ГСД и, если гипогликемия сохраняется, требует серьезного лечения и тщательного ухода [68].

Следует особо отметить, что реализация негативного воздействия даже незначительной гипергликемии во время беременности зависит от стадии эмбриофетогенеза. Согласно данным исследования НАРО FUS, проведенного в 2013-2016гг., внутриутробное воздействие повышенного уровня гликемии ассоциировано с нарушением толерантности к глюкозе и инсулинорезистентностью у детей [69]. Кроме того, ГСД ассоциирован не только с повышением частоты кесарева сечения, но и с риском развития

гестационной артериальной гипертензии и преэклампсии [70], депрессии во время беременности [71]. В долгосрочной перспективе женщин, во время беременности которых был диагностирован ГСД, имеется риск развития СД 2 типа, метаболического синдрома и сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). Так, у женщин с ГСД в анамнезе в 7,4 раза повышена вероятность развития СД 2 типа. У детей, рожденных от матерей с ГСД, наблюдается значительно более высокое артериальное давление и ожирение, а также гипергликемия и ИМТ [72]. В результате повышенного сердечно-сосудистого риска у потомства с ГСД чаще развиваются сердечные аритмии и госпитализации по поводу ССЗ [73]. У детей с ГСД также на 29% выше вероятность развития ССЗ с ранним началом, таких как сердечная недостаточность, гипертоническая болезнь, тромбоз глубоких вен и легочная эмболия [74]. Все эти исследования указывают на влияние окружающей среды внутриутробно на программирование метаболических заболеваний у потомства. К счастью, контроль гликемии у женщин с ГСД может улучшить исходы беременности [75, 76], поэтому ранняя диагностика и своевременная коррекция гипергликемии во время беременности может стать успешным решением актуальной акушерской проблемы.

1.5. Методы раннего скрининга и диагностики ГСД

В последнее время многие ученые особое внимание уделяют проблеме раннего скрининга ГСД. Многие организации здравоохранения рекомендуют при первом пренатальном визите тестировать на наличие манифестного СД женщин высокого риска [77, 78], что связано с высоким риском врожденных пороков развития и неблагоприятных исходов беременности [79].

Международная ассоциация групп по изучению диабета и беременности (IADPSG) и ВОЗ рекомендуют проводить универсальный скрининг всех беременных в первом триместре путем измерения глюкозы венозной плазмы натощак [61, 80]. Главным преимуществом этого исследования является диагностика манифестного СД уже на первом пренатальном визите с

использованием стандартных диагностических критериев [т. е. если глюкоза венозной плазмы натощак ≥ 126 мг/дл ($\geq 7,0$ ммоль/л)] [81]. Ранний ПГТТ (с использованием пероральной нагрузки 75 г глюкозы, растворенной в 300 мл воды) до 24 недель гестации может также использоваться для диагностики манифестного диабета, если уровень глюкозы плазмы крови через 2 ч ≥ 200 мг/дл ($\geq 11,1$ ммоль/л) согласно рекомендациям FIGO и ВОЗ [80, 81].

Некоторые национальные общества [82, 58, 59, 60, 61] предлагают проводить тестирование на наличие манифестного диабета у женщин из группы высокого риска при первом пренатальном визите путем проведения перорального глюкозо-толерантного теста (ПГТТ). Согласно ACOG, ранний ПГТТ следует проводить в начале беременности [58]. NICE рекомендует проводить как можно раньше 2-часовой ПГТТ с 75 г глюкозы для женщин, у которых был ГСД при предыдущей беременности [82]. Если результаты ранних тестов отрицательные, скрининг ГСД по-прежнему рекомендуется на 24–28 неделе беременности [82, 58]. Точно также Национальная система здравоохранения Италии [83, 84] рекомендует скрининг в сроке 16-18 недель беременности у женщин с ГСД в анамнезе, ожирением или повышением глюкозы плазмы натощак (глюкоза венозной плазмы натощак 5,55 - 6,94 ммоль/л) в течение первого триместра беременности [85]. Министерство здравоохранения Китая [86], Индийская группа по исследованию диабета при беременности (DIPSI) [87] рекомендуют универсальный скрининг всех беременных при первом пренатальном визите. Обобщающие данные приведены в таблице 1.

Большинство исследований по изучению эффективности ранней диагностики нарушений углеводного обмена имеют два основных ограничения: использование неподтвержденных диагностических критериев, отсутствие уточнения физиологических гликемических изменений в ранние сроки беременности, а также использование промежуточных результатов, таких как диагноз ГСД в 24-28 недель беременности вместо использования истинных показателей неонатальных и материнских исходов беременности.

Но в то же время женщины с диагностированным ГСД в конце второго или начале третьего триместра имеют меньшее окно возможностей для предотвращения макросомии плода и других нарушений.

Таблица 1

Диагностика ГСД различными международными ассоциациями

Название организации	Год	Методы ранней диагностики ГСД у женщин высокого риска	Методика проведения ПГТТ в 24-28 недель беременности	Критерии ГСД (глюкоза плазмы крови)
IADPSG	2015	Нет	*one step	натощак 5,1-6,9 ммоль/л через 1 час > 10,0 ммоль/л через 2 часа > 8,5 ммоль/л
ВОЗ	2013	Нет	one step	критерии IADPSG
NICE	2019	ПГТТ как можно раньше женщинам с ГСД в анамнезе	one step	натощак \geq 5,6 ммоль/л через 2 часа \geq 7,8 ммоль/л
ADA	2020	ПГТТ для исключения манифестного СД	1) one step или 2) **two step	1) критерии IADPSG 2) натощак \geq 5,3 ммоль/л через 1 час \geq 10,0 ммоль/л через 2 часа \geq 8,6 ммоль/л через 3 часа \geq 7,8 ммоль/л
ACOG	2018	ПГТТ	two step	натощак \geq 5,3 ммоль/л через 1 час \geq 10,0 ммоль/л через 2 часа \geq 8,6 ммоль/л через 3 часа \geq 7,8 ммоль/л
DDG	2018	HbA1c	one step	критерии IADPSG
SOGC	2016	ПГТТ	1)one step или 2)two step (предпочтительный)	1) критерии IADPSG 2) шаг 1: - скрининг-тест \geq 11,1, то ГСД - если 7,8 - 11,1 ммоль/л, то шаг 2: натощак \geq 5,3 ммоль/л через 1 час \geq 10,6 ммоль/л через 2 часа \geq 9,0 ммоль/л
Индия	2012	Нет	one step	через 2 часа > 7,8 ммоль/л
Китай	2012	Нет	one step	критерии IADPSG если уровень глюкозы натощак < 4,4 ммоль/л, то ПГТТ не проводится
FIGO	2015	Нет	one step	критерии IADPSG
Финляндия	2013	ПГТТ в 12-16 недель	one step	натощак \geq 5,3 ммоль/л через 1 час \geq 10,0 ммоль/л через 2 часа \geq 8,6 ммоль/л

С целью скрининга и диагностики ГСД в ранние сроки беременности используются прямые гликемические тесты, такие как глюкоза венозной плазмы натощак, случайное определение глюкозы венозной плазмы (СОГВП), пероральный глюкозо-толерантный тест, и косвенные методы - гликозилированный гемоглобин (HbA1c) или фруктозамин и более новые биохимические маркеры.

1) Глюкоза венозной плазмы натощак

Анализ уровня глюкозы венозной плазмы натощак (ГВПН) представляет определенные сложности, в первую очередь, за счет высокой вероятности преаналитической ошибки, обусловленной несоблюдением правил забора, обработки и транспортировки проб крови в лабораторию. Кроме того, уровень ГВПН снижается с увеличением срока беременности. Например, в Китае средний показатель ГВПН составил 4,95 ммоль/л в сроке беременности 4-6 недель, 4,70 ммоль/л - в 10–12 недель, 4,53 ммоль/л - в 14–16 недель и был самым низким - 4,38 ммоль/л в 20–24 недели гестации [88]. Следует отметить, что при исследовании в другой китайской популяции, пороговые значения ГВПН для прогнозирования ГСД после 24 недель беременности различались в зависимости от ИМТ. Предельное значение ГВПН было 4,77 ммоль/л у женщин с недостаточной массой тела до беременности; 4,92 ммоль/л - у женщин с нормальным весом до беременности; 5,00 ммоль/л - с избыточным весом и 5,05 ммоль/л - у беременных с ожирением [89]. В целом, порог ГВПН зависит от срока беременности и ИМТ.

Ретроспективный анализ проспективной когорты из 1228 беременных выявил, что в многонациональной популяции уровень ГВПН в первом триместре беременности не имел преимуществ в качестве предиктора развития осложнений беременности по сравнению с HbA1c. Более того, HbA1c $\geq 5,8\%$ (39,9 ммоль/моль) в ранние сроки беременности был ассоциирован с повышенным риском развития макросомии [90].

2) Случайное определение глюкозы венозной плазмы

Ретроспективное исследование 17736 беременных показало, что СОГВП при обследовании в ранние сроки беременности (12-16 недель беременности) имеет достаточные показатели в качестве скринингового теста ГСД и в целом лучше, чем скрининг, основанный на установленных факторах риска (возраст матери и ИМТ). Также СОГВП может играть определенную роль в выявлении женщин, которые находятся в группе низкого риска развития ГСД, и которые будут рассматриваться как имеющие низкий приоритет для ранней диагностики. И наоборот, СОГВП может использоваться для выявления женщин с высоким риском развития ГСД, которым необходима более ранняя диагностика или более ранние мероприятия по изменению образа жизни в ранние сроки беременности. Однако у женщин с низким уровнем глюкозы венозной плазмы вне зависимости от времени суток и приема пищи все же может развиваться ГСД, есть данные о том, что при определении только случайной глюкозы венозной плазмы, без проведения ПГТТ во втором триместре, существует риск пропуска почти в 30% случаев ГСД [91].

3) Ранний пероральный глюкозо-толерантный тест

ПГТТ может быть более точным диагностическим методом, чем однократное исследование глюкозы венозной плазмы натощак для диагностики ГСД в ранние сроки беременности. Так, проведение раннего ПГТТ у беременных с ожирением привело к дополнительной диагностике 21,5% ГСД по сравнению с исследованием только ГВПН [75]. В исследовании, проведенном в Финляндии, беременным женщинам было предложено пройти двухчасовой 75г ПГТТ в 12-16 недель беременности и, в случае нормального значения, повторное тестирование было проведено в 24-28 недель беременности. Ранний ГСД был диагностирован у 209 (14,9%) человек, а поздний ГСД - у 114 (10,6%) человек. Авторы сделали выводы о необходимости разработки пороговых значений ПГТТ для диагностики ГСД в зависимости от гестационного возраста [92].

4) Гликозилированный гемоглобин - HbA1c.

HbA1c может также использоваться для выявления манифестного диабета в первом триместре ($\geq 6,5\%$) в соответствии с действующими рекомендациями [93]. Тест должен быть выполнен в лаборатории с использованием метода определения, сертифицированного в соответствии с National Glycohemoglobin Standardization Programm (NGSP) и стандартизованного в соответствии с референсными значениями, принятыми в DCCT (Diabetes Control and Complications Study) [93]. Исследование HbA1c имеет то преимущество, что он недорог и выполняется не натощак. Fong и соавторы оценили его прогностическую эффективность для прогрессирования ГСД в ретроспективном когортном исследовании, которое выявило, что уровни HbA1c между 5,7 и 6,4% (39-46 ммоль/моль) могут эффективно идентифицировать пациентов с самым высоким риском развития ГСД [94]. Дальнейшее исследование из Новой Зеландии показало, что HbA1c $\geq 5,9\%$ (41 ммоль/моль) является высоко прогностическим фактором для уже существующего СД и неблагоприятных исходов беременности [95]. Кроме того, в другом исследовании из Швейцарии был сделан вывод о том, что у всех беременных с HbA1c $\geq 6,0\%$ в первом триместре (42 ммоль/моль) в дальнейшем развивается ГСД, в то время как женщины с HbA1c $< 4,5\%$ (26 ммоль/моль) не имеют этого осложнения беременности [96].

5) Другие биохимические маркеры

В настоящее время повышается интерес к разработке простых анализов, которые помогут идентифицировать женщин с низким или высоким риском ГСД, снизив необходимость универсального тестирования на глюкозу. Многие биохимические маркеры были оценены в первом триместре, но, как правило, только в небольших исследованиях случай-контроль без перспективной валидации. Исследование Dereke et al., опубликованное в 2020г., показало увеличение циркулирующего плацентарного протеина, ассоциированного с беременностью (PAPP-A) у женщин с ранним гестационным диабетом, которое не зависило от возраста,

ИМТ, концентрации С-пептида и адипонектина [97]. Последнее исследование Alamolhoda et al., выявило достоверную взаимосвязь между повышением сывороточной концентрации СРБ в первом триместре беременности и риском развития ГСД. Риск развития ГСД у женщин с самой высокой концентрацией СРБ в сыворотке крови оказался в три раза выше, чем у женщин с самой низкой его концентрацией [98]. Но в то же время, серьезным недостатком использования СРБ в качестве инструмента скрининга является его неспецифичность.

Адипоцитокнины, такие как адипонектин и лептин, являются гормонами, выделяемыми жировой тканью. Адипонектин играет важную роль в регуляции глюкозы и, по-видимому, является хорошим маркером чувствительности организма к инсулину [99]. Недавний метаанализ, включавший 8 исследований с использованием уровней адипонектина на ранних сроках беременности, показал умеренную прогностическую способность адипонектина в прогнозировании ГСД с площадью под ROC-кривой 0,79, чувствительностью 60,3% и специфичностью 81,3% [100]. В ряде исследований глобулин, связывающий половые гормоны (ГСПГ) используется в качестве предиктора позднего развития ГСД. Систематический обзор, включающий 26 исследований, показал, что уровень ГСПГ значительно ниже у беременных с ГСД, чем у здоровых женщин, и оценка этого маркера на ранних сроках беременности может рассматриваться как предположительный риск развития ГСД. Ряд зарубежных ученых (W. Guo, H. Wang et al., 2018) исследовали взаимосвязь между концентрацией сывороточного железа и ферритина в плазме крови и ГСД. Исследование проводили в группе беременных до 12 недель гестации. Были сделаны выводы о том, что уровни ферритина и сывороточного железа в плазме крови в группе пациенток с ГСД выше, чем в группе пациенток с нормально протекающей беременностью ($p < 0,05$) [101]. Исследование плазменного гликированного CD59 (pGCD59) показало, что pGCD59 является простым и

точным биомаркером для выявления ГСД в ранние сроки беременности [102].

1.5.1. Внеклеточные везикулы как предикторы ГСД

Эффективность ранней диагностики ГСД может быть улучшена за счет использования дополнительных биомаркеров, таких как внеклеточные везикулы (ВВ). ВВ представляют собой бислойные структуры из мембранных липидов, которые присутствуют во всех жидкостях нашего организма: интерстициальной, спинномозговой, амниотической и других, а также в слюне, сперме, плазме крови, лимфе. С помощью ВВ локально на уровне клеточной ниши и системно на уровне организма осуществляется межклеточная коммуникация в виде крупных биомолекул, таких как РНК и белки – ферменты [103].

Существование липидного везикулярного материала в крови было обнаружено в 1967 году в работах английского физиолога Питера Вульфа [104], который пытался разобраться в природе прокоагулянтной активности плазмы крови. Вульф с коллегами показали, что плазма крови, освобожденная от интактных тромбоцитов, содержит мельчайшие частицы, которые могут быть отделены посредством ультрацентрифугирования.

В начале 70-х годов XX века в ряде работ впервые был показан перенос мембранных компонентов между клетками [105]. И до начала XXI века ВВ считались малозначительной «экзотикой», пока ученые не взялись за них всерьез и обнаружили массу важных и интересных способностей ВВ. Интерес к ним значительно возрос после 2006 года, когда было обнаружено, что ВВ могут переносить между клетками различные РНК, включая матричную и микроРНК. Хотя о существовании внеклеточных везикул известно достаточно давно, общий термин «внеклеточные везикулы» был предложен только в 2011 году [106]. В эту категорию попадают все мембраноограниченные внеклеточные структуры. За последние десятилетия ВВ поднялись в статусе от «клеточного мусора» до активно изучаемых и важных объектов. Логичным выглядит образование целых международных и

национальных научных сообществ, посвящённых ВВ: International Society for Extracellular Vesicles (ISEV), German Society for Extracellular Vesicles, American Society for Exosomes and Microvesicles. Помимо персонального журнала (Journal of Extracellular Vesicles), везикулам посвящены три базы данных: Vesiclepedia, Evpedia и ExoCarta. В базе Vesiclepedia во внеклеточных везикулах на ноябрь 2019 года было обнаружено 349 988 белков, 27 646 мРНК, 10 520 микроРНК, 639 липидов в ходе проведенных 1 254 исследований (Ноябрь, 2019).

ВВ представляют собой бислойные липосомы, несущие разнообразные мембранные белки, матричные и микрорибонуклеиновые кислоты (мРНК и миРНК). Точный состав и структура зависят от типа клеток, на которых ВВ формируются в результате выпячивания и отрыва участков разных клеточных мембран. Как известно, внеклеточные везикулы – это общий термин, признанный Международным обществом внеклеточных везикул (ISEV), включающий в себя целое семейство наночастиц, включающих четыре основных класса: 1) эктосомы, 2) экзосомы, 3) апоптозные тельца и 4) ретровирус-подобные частицы/микровезикулы [107].

Экзосомы – это тип ВВ, которые возникают в ранних эндосомах, образующихся в результате внутреннего зарождения плазматической мембраны (рисунок 1). Ранние эндосомы созревают до поздних эндосом, и во время этого процесса внутренняя инвагинация их мембран приводит к образованию внутрипросветных пузырьков, которые имеют размер от 30 до 100 нм, аналогичный размеру экзосом [108]. Во время образования внутрипросветных пузырьков в них упаковываются клеточные грузы, такие как белки и нуклеиновые кислоты, и эндосомы с внутрипросветными пузырьками называются «мультивезикулярными тельцами». Впоследствии слияние «мультивезикулярных телец» с клеточной мембраной приводит к высвобождению этих внутрипросветных пузырьков во внеклеточное пространство, где они называются экзосомами [109].

Микровезикулы, микрочастицы или экзосомы образуются в результате прямого зарождения плазматической мембраны, тогда как апоптотические тела высвобождаются в результате апоптоза клеток (рисунок 1) [108, 110, 111].

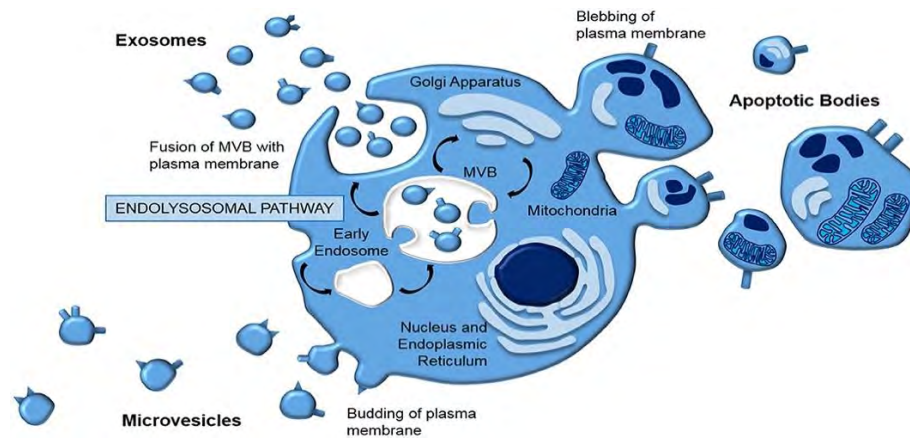


Рисунок 1. Биогенез ВВ. ВВ обычно классифицируются в соответствии с их биогенезом. Апоптотические тельца и микровезикулы высвобождаются из плазматической мембраны в механизмах блеббинга (образования пузырьков) и баддинга (почкования), соответственно. Напротив, экзосомы генерируются эндолизосомным путем; внутреннее почкование эндосомы приводит к образованию «мультивезикулярного тельца», которое сливается с плазматической мембраной, высвобождая экзосомы путем экзоцитоза (Caruso S. et al., 2018)

Они имеют размеры 100–1000 нм в диаметре и являются единственным видом ВВ, доступным для прямого наблюдения в оптическом диапазоне с помощью микроскопа или проточного цитометра [112, 113].

Апоптотические тельца имеют диаметр от 1000 до 5000 нм и обычно высвобождаются из пузырьков мембраны апоптотических клеток [114]. Апоптоз является важнейшим клеточным процессом, посредством которого регулируемое осуществление генетически запрограммированной гибели клеток способствует поддержанию физиологического гомеостаза [115]. Во время апоптоза в клетке происходит ряд внутренних изменений, которые в конечном итоге приводят к образованию апоптотических телец [116, 117].

В связи с различным биогенезом ВВ в значительной степени перекрываются с точки зрения их физических и функциональных свойств, и это затрудняет изоляцию или разделение чистых популяций подтипов ВВ. Следовательно, Международное общество внеклеточных везикул (ISEV –

The International Society for Extracellular Vesicles) рекомендует использовать специальные термины для подтипов ВВ, которые относятся к их физическим и биохимическим характеристикам [118].

Внеклеточные везикулы, высвобождаемые во внеклеточное пространство, могут опосредовать через аутокринную сигнализацию, воздействуя на свою клетку происхождения [119], паракринную сигнализацию, воздействуя на соседнюю клетку-реципиент [120], и эндокринную сигнализацию, пересекая эндотелиальный барьер и достигая различных органов [120, 121, 122, 123]. В нескольких исследованиях ВВ были идентифицированы как мощные посредники межклеточного взаимодействия [124, 125]. ВВ в целом являются «отпечатком пальца» своих клеток происхождения, однако исследования показывают специфическое содержание молекул в этих везикулах по сравнению с их родительскими клетками [126, 127, 128]. Один из наиболее важных вопросов в этой связи заключается в том, сортируется ли специально содержимое, такое как белки, микроРНК и липиды в эти пузырьки. РНК-связывающие белки (AGO2 (Argonaute2) и белок Y-box1), как предполагается, участвуют в сортировке и загрузке микроРНК во ВВ [129]. Аналогичным образом, сообщается о посттрансляционных модификациях, таких как убиквитинирование, сумоилирование и добавление определенных небольших полипептидных цепей при селективной сортировке белков в экзосомы во время биогенеза [130, 131, 132]. Следовательно, наличие механизма селективной сортировки указывает на то, что содержание ВВ изменяется в зависимости от физиологического состояния клетки.

О механизмах, посредством которых ВВ поглощаются клетками-мишенями и вызывают их биологический ответ, сообщалось в нескольких исследованиях [133, 134, 135, 136, 137]. Однако, внутривенно вводимые ВВ на животных моделях демонстрируют динамическую пространственно-временную локализацию от крови к различным органам, преимущественно к селезенке, затем к печени [138]. ВВ, особенно малые внеклеточные везикулы,

могут связываться с клетками-мишенями посредством классического взаимодействия лиганд-рецептор. Рецепторы и лиганды специфичны для типа клеток-реципиентов и клеток происхождения ВВ соответственно [139, 140, 141].

Во время беременности слой синцитиотрофобласта плаценты секретирует малые ВВ в кровотоки матери уже с 6 недель беременности [142]. Плацентарные ВВ характеризуются наличием маркера плацентарной щелочной фосфатазы (PLAP) синцитиотрофобласта, обнаруженного на их поверхности и высвобождаемого из клеток синцитиотрофобласта [143]. Salomon et al. продемонстрировали, что циркулирующая концентрация как общих, так и плацентарных ВВ в материнской плазме значительно увеличивается во время беременности, и что концентрации как общих, так и плацентарных ВВ положительно коррелируют с прогрессированием беременности [144]. Хотя малые ВВ преимущественно перемещаются из плаценты в материнское кровообращение, имеются доказательства того, что материнские малые ВВ и плацентарные ВВ транспортируются к плоду [145, 146] и что фетальные малые ВВ способны перемещаться в материнский кровоток [147]. Sheller-Miller et al. продемонстрировали, что материнские ВВ могут перемещаться в ткани плода, приводя к функциональным изменениям во время беременности, вследствие чего, малые ВВ могут способствовать паракринной фето-материнской коммуникации во время беременности [148]. Высвобождение и содержание малых ВВ зависит от микроокружения; во время беременности высвобождение плацентарных ВВ регулируется определенными метаболическими факторами, такими как гипоксия и уровень глюкозы [148, 149]. ВВ, высвобождаемые из плаценты, содержат гетерогенный набор белков [150] и микроРНК [151, 152]. Считается, что плацентарные ВВ модулируют фето-материнскую коммуникацию, необходимую для адаптации, необходимой во время беременности. И наоборот, известно, что малые ВВ способствуют различным патологиям, наблюдаемым во время беременности, таким как ГСД [153]. Следовательно,

малые ВВ обеспечивают режим связи матери и плода, передавая свое содержимое, что, в свою очередь, отражает функциональное состояние клеток происхождения, клеток-реципиентов, вызывающих фенотипические изменения, наблюдаемые как при здоровой, так и при патологической беременности.

Беременные, у которых развивается ГСД, демонстрируют повышенную концентрацию как общих, так и плацентарных ВВ по сравнению с беременными с нормогликемией [154]. Это увеличение циркулирующих ВВ, связанное с ГСД, продолжается на протяжении всей беременности, при этом количество циркулирующих плацентарных ВВ в течение беременности увеличивается примерно в 2 раза по сравнению со здоровыми беременными [155]. ГСД ассоциируется с гипергликемией матери, которая, в свою очередь, может стимулировать высвобождение и биоактивность плацентарных ВВ [149, 155]. Было показано, что плацентарные ВВ являются биологически активными и способствуют провоспалительному состоянию матери, наблюдаемому при ГСД, стимулируя высвобождение провоспалительных цитокинов из эндотелиальных клеток вены пуповины [154].

Скрининг и диагностика ГСД в ранние сроки беременности может привести к улучшению здоровья матери и потомства в детстве и во взрослой жизни. Известно, что менеджмент ГСД может оказать положительное влияние на краткосрочные, но не на долгосрочные осложнения [156, 157]. Большинство женщин не знают о своем гликемическом статусе до тестирования, которое проводится во время беременности. Следовательно, если бы скрининг и диагностика могли проводиться на ранних сроках беременности, можно было бы использовать лечебно-профилактические вмешательства с 1 триместра. ВВ выделяются большинством клеток и содержатся в различных жидкостях организма, включая не только кровь и мочу, а грудное молоко, околоплодные воды, сперму, асцитную жидкость, желчь и слюну. Так, Lara J. Monteiro et al., показали более высокую концентрацию ВВ, выделенных из жидкости десневой борозды, полученной

на 11–14 неделе беременности у женщин, у которых позже развивался ГСД, по сравнению с «нормогликемическими» беременными [158]. Это говорит о том, что гипергликемическое и провоспалительное состояние ГСД стимулирует высвобождение ВВ в ротовой жидкости. Таким образом, эти пероральные ВВ могут быть потенциальным биомаркером первого триместра для предикции ГСД у женщин с предсимптомным течением.

1.5.2. Роль микроРНК при ГСД

В последнее время все большую популярность обретает изучение малых некодирующих РНК (нкРНК). Эти небольшие одноцепочечные молекулы РНК были обнаружены у многих живых организмов и, как оказалось, вовлечены во многие физиологические и патологические процессы: клеточное развитие, пролиферацию, дифференцировку, апоптоз, секрецию инсулина, биосинтез холестерина и др. [159, 160, 161]. Некодирующие РНК представляют собой класс РНК, которые в основном отвечают за регуляцию многих клеточных сигнальных путей. Эти молекулы можно разделить на длинные некодирующие РНК (днкРНК), микроРНК (миРНК) и кольцевые РНК (цирРНК). Наиболее изученным классом являются микроРНК (миРНК). К настоящему времени стало очевидным, что подавление экспрессии генов с участием микроРНК является исключительно важным универсальным механизмом, широко вовлеченным в большинство внутриклеточных сигнальных путей.

Первые работы, описывающие микроРНК, были опубликованы в 1993 году коллективами под руководством Виктора Эмброза и Гэри Равкана, изучавшими механизмы регуляции развития *нематоды Caenorhabditis elegans* [162, 163] и впервые был продемонстрирован новый механизм подавления экспрессии с помощью антисмысловой РНК. А термин «микроРНК» впервые был использован в 2001 году [164, 165].

В связи с возникшей потребностью организовывать и систематизировать информацию об открываемых микроРНК исследователи

Сэнгеровского института (Великобритания) создали специализированную базу данных, названную miRBase [166]. В настоящее время база поддерживается Манчестерским университетом и является главным централизованным хранилищем информации, куда в обязательном порядке заносятся все вновь открываемые микроРНК [167]. Текущая версия базы (выпуск №22.1 от 2019г.) содержит сведения о 38 589 микроРНК (из них 4719 человека) и доступна на сайте <http://mirbase.org>.

МикроРНК представляют собой эндогенные некодирующие молекулы РНК длиной около 19-22 нуклеотидов, которые играют роль в посттрансляционном молчании генов путем ингибирования трансляции или деградации мРНК [168]. Общеизвестно, что одна микроРНК может нацеливаться на сотни мРНК, и конкретная мРНК-мишень часто находится под контролем нескольких различных микроРНК [169]. Было установлено, что микроРНК имеют потенциальную активность во многих важных биологических функциях, таких как клеточная пролиферация, дифференцировка, апоптоз, инициация и развитие заболеваний [170]. Более того, они регулируют гены, участвующие в метаболических процессах [171]. Их дисрегуляция или дисфункция были выявлены во многих метаболических исследованиях, касающихся ожирения, СД 2 типа и сердечно-сосудистых заболеваний [172, 173].

Биогенез микроРНК выглядит таким образом. МикроРНК в основном транскрибируются РНК-полимеразой II и, таким образом, дают первичную микроРНК (называемую pri-miRNA), приблизительно 500-3000 нуклеотидов в длину [174]. Затем pri-miRNA расщепляется на преждевременную микроРНК (называемую pre-miRNA) длиной около 70–80 нуклеотидов с помощью микропроцессорного комплекса [175]. Кроме того, pre-miRNA затем экспортируется в цитоплазму с помощью переносчика ядерного экспорта, экспортин-5, который обрабатывает примерно 22-нуклеотидный «дуплекс микроРНК» путем взаимодействия с эндонуклеазой РНКазы III, белком Dicer и кофактором двухцепочечной трансактивации [176]. Дуплекс микроРНК

интегрируется в «РНК-индуцированный комплекс молчания» (miRNA-induced silencing complex) после связывания с белком Ago2 из семейства Argonaute, где они связываются с частичными или полностью комплементарными последовательностями в 3'-нетранслируемой области (3'-UTR) или 5'-UTR мРНК-мишени и, таким образом, участвуют в регуляторном процессе экспрессии генов (рисунок 2) [177].

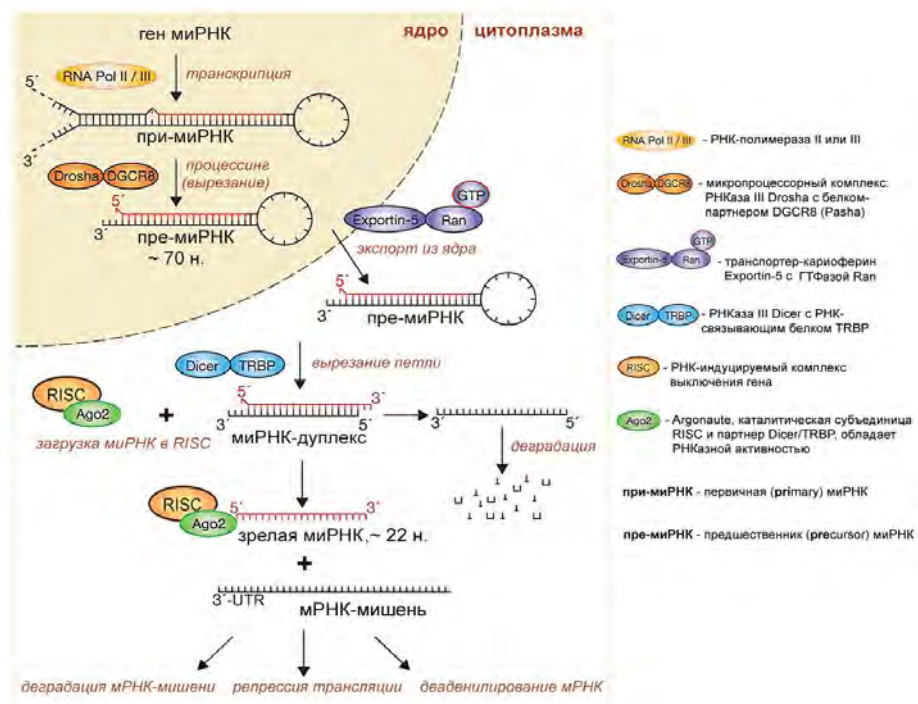


Рисунок 2. Биогенез микроРНК (сайт www.nature.com)

В 2013 году полногеномный анализ показал, что более 600 микроРНК экспрессируются в плаценте [178]. МикроРНК могут высвободиться из плаценты в материнский кровоток уже на 6-й неделе беременности. Они участвуют в развитии плаценты, секреции инсулина, функционировании β -клеток, метаболизме липидов и в регуляции сердечно-сосудистой системы. Недавно Poigier и соавт. рассмотрели плацентарные микроРНК, которые нарушают регуляцию во время беременности при ГСД [179]. Плацента играет важную роль в метаболической адаптации матери к беременности, и считается, что дифференциальная экспрессия плацентарных микроРНК частично лежит в основе этих физиологических изменений. Плацентарные

микроРНК высвобождаются в кровотоки матери [180], таким образом, эти микроРНК обладают потенциалом в качестве биомаркеров плацентарной дисфункции при ГСД.

В 2011 году Zhao et al. были первыми, кто профилировал экспрессию сывороточных микроРНК у беременных с ГСД. Они идентифицировали три микроРНК – miR-132, miR-29a и miR-222, которые были значительно снижены у женщин Китая с ГСД ($n=24$) по сравнению с контрольной группой ($n=24$). Считается, что эти микроРНК играют роль в гомеостазе глюкозы, чувствительности к инсулину и функции бета-клеток [181]. Недавно Pfeiffer и соавт. сообщили о снижении экспрессии miR-132, miR-29a и miR-222 в сыворотке южноафриканских женщин с ГСД ($n=28$) по сравнению с контрольной группой ($n=53$) [182]. Эти данные демонстрируют, что экспрессия этих сывороточных микроРНК является общей для населения Южной Африки и Китая. В отличие от Zhao, Taghomi et al. показали, что экспрессия miR-222 была увеличена в плазме женщин с ГСД ($n=13$) по сравнению с контрольной группой ($n=9$) [183]. Wander et al. не наблюдали различий в экспрессии miR-222 или miR-29a в плазме американок европеоидной расы с ГСД ($n=36$) по сравнению с контрольной группой ($n=80$) [184]. Эти расхождения могут быть связаны с различиями в используемых биологических образцах (сыворотка или плазма), сроком гестации или другими неизвестными факторами, которые не учитывались. Zhu et al. использовали высокопроизводительное секвенирование и количественную ПЦР для исследования микроРНК в образцах плазмы китайских женщин с ($n=10$) и без ($n=10$) ГСД в сроки 16-19 недель беременности. Пять микроРНК (miR-16, miR-17, miR-19a, miR-19b и miR-20a) были значительно повышены при ГСД по сравнению с контрольной группой [185]. Cao et al. исследовали miR-16, miR-17 и miR-20a в большей когорте китайских женщин в сроке 16–19 недель, 20–24 недель и 24–28 недель беременности и обнаружили устойчивую повышенную экспрессию в

плазме женщин с ГСД ($n=85$) по сравнению с группой контроля ($n=72$) во все измеренные временные точки [186].

Feng et al. оценили уровень микроРНК в образцах периферической крови, полученных от 12 беременных с ГСД и 12 беременных с нормогликемией. Было продемонстрировано, что miR-33a-5p значительно повышена в группе ГСД по сравнению с группой контроля [187]. Аналогичным образом, Sebastiani et al. оценили уровень miR-330-3p и обнаружили его гиперэкспрессию в образце крови у 21 беременной с ГСД по сравнению с 10 беременными контрольной группы на сроке 24-33 недели беременности [188, 189].

1.5.3. УЗ-фетометрия и ГСД

Измерение антропометрических размеров плода является важным показателем в ведении ГСД. Крупновесные для срока гестации плоды могут быть результатом неадекватно лечения ГСД, и исследования показали, что чрезмерный рост плода связан с неблагоприятными перинатальными исходами, включая гипогликемию, респираторный дистресс-синдром, дистоцию плечиков и паралич Эрба [191]. Однако слишком агрессивный контроль уровня глюкозы является возможной причиной для развития маловесных плодов [192]. Маловесные плоды связаны с долгосрочными неблагоприятными исходами, включая ишемическую болезнь сердца, гипертонию и сахарный диабет [193], а в более позднем возрасте плохую успеваемость в школе [194]. Следовательно, преимущества строгого контроля уровня глюкозы должны быть сбалансированы с рисками. Это еще более осложняется доказательствами того, что рост плода при данном уровне гликемического контроля является переменным, поэтому строгий контроль уровня глюкозы может не подходить для всех женщин с ГСД [195]. Ведение под контролем УЗ-исследования может лучше определить, какие беременные подвержены риску чрезмерного роста плода. В этой системе управления ультразвуковые измерения плода, в частности окружности живота плода

(ОЖ), используются для стратификации беременных по риску. На сегодняшний день в четырех рандомизированных клинических исследованиях (РКИ) изучалась эта стратегия ведения беременности [196], и метаанализ этих исследований показал, что показатели развития крупновесных плодов были значительно ниже при терапии под УЗ-контролем, по сравнению со стандартной терапией (8,1% против 16,7%, $p = 0,0017$) [197]. Это показывает, что ультразвуковое наблюдение позволяет выявить лиц с повышенным риском развития макросомии плода, а лечение может быть усилено соответствующим образом. В трех из этих РКИ также сообщалось о показателях развития маловесных плодов, а метаанализ выявил показатели 6,9% в группе с модифицированной терапией по сравнению с 11,2% в группе традиционной терапии ($p=0,087$) [197].

В недавнем кокрейновском обзоре были сделаны выводы о том, что доказательства влияния ведения под контролем ультразвука на показатели макросомии имеют очень низкую достоверность, учитывая ограничения в дизайне исследования, широкие доверительные интервалы и значительную неоднородность между исследованиями [198]. Также были высказаны опасения по поводу того, что ультразвуковое исследование в третьем триместре может значительно завышать показатели размеров плода [199], что вызывает вопрос в том, насколько точно ведение может быть адаптировано с учетом динамики роста. Наконец, масса плода – не единственная причина лечения ГСД, поэтому при этой стратегии существует риск неонатальной или материнской заболеваемости, особенно если целевые показатели глюкозы снижены [200]. Эта стратегия ведения имела ограниченное распространение, и несколько руководящих принципов, в настоящее время рекомендуемых использовать ультразвукового мониторинга в клинической практике, были неточными в своих рекомендациях. Например, на V Международном семинаре-конференции по ГСД в 2005 году было предложено осуществлять мониторинг роста плода у пациентов с ГСД путем ультразвукового измерения ОЖ плода, начиная со

второго и начала третьего триместров, с повторными ультразвуковыми исследованиями каждые 2-4 недели [201]. Если ОЖ выше 75-ого перцентиля, они утверждают, что нужно рассмотреть вопрос об интенсивном ведении и возможности более низких целевых показателей гликемии и/или начала инсулинотерапии. Следует отметить, что нет четких рекомендаций по ведению, когда перцентиль ОЖ низкий или снижается для профилактики развития маловесного плода для срока гестации, может быть применено более мягкое ведение, если ОЖ ниже 75-го перцентиля. Клинические рекомендации Австралии по ГСД используют эти рекомендации для лечения избыточного роста плода, но в них нет упоминания о смягчении терапии [202]. Davidson et al. показали, что ведение ГСД под контролем ультразвука было независимо связано с улучшением некоторых неонатальных исходов (а именно, меньшее количество новорожденных в группе ведения под УЗ-контролем были госпитализированы в отделение специального ухода или интенсивной терапии (29,1% против 48,3%, $p=0,004$), имели длительное пребывание в больнице (3,7% против 13,8%, $p=0,006$) или имели гипогликемию (42,5% против 56,3%, $p=0,045$) [203]. В исследовании Совио и др. показано, что до постановки диагноза ГСД уже имеет место ускоренный рост плода уже на 20-й неделе гестации [204]. Менеджмент ГСД с помощью ультразвука имеет некоторую поддержку в РКИ, что также отражено в нескольких клинических руководствах [202], но ясно, что эта стратегия управления нуждается в дальнейшей оценке, учитывая опасения по поводу существующих данных и отсутствия широкого распространения [205].

Глава 2. ДИЗАЙН, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы исследования

Работа выполнялась в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (директор – профессор, академик РАН Г.Т. Сухих). Клиническая часть работы выполнена в 1-ом отделении акушерском патологии беременности (заведующая – к.м.н. К.А. Гладкова). Специальные методы исследования осуществлялись в лабораториях: лаборатория клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» МЗ РФ (заведующий – д.б.н. Силачев Д.Н.), прикладной транскриптомики отдела системной биологии в репродукции ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» МЗ РФ (заведующая - к.б.н. Тимофеева А.В.)

Сбор материала осуществлялся с ноября 2019 года по декабрь 2021 года.

2.1.1. Дизайн исследования

В проспективное когортное исследование было включено 175 беременных, подписавших добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Исследование было одобрено комиссией по этике биомедицинских исследований при ФГБУ «НМИЦАГП им. В.И. Кулакова» МЗ РФ (протокол №8 от 31.10.2019). Все пациентки 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 2.

Все пациенты обследованы в соответствии с приказом Минздрава России №572н от 01.04.2013г. «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология» (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)» и приказом Министерства Здравоохранения России от 20.10.2020 №1130н «Об утверждении Порядка оказания медицинской

помощи по профилю «акушерство и гинекология» (Зарегистрировано в Минюсте России 12.11.2020 N 60869).

Таблица 2

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

Первый этап исследования включал проведение перорального глюкозотолерантного теста пациенткам, обратившимся в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России в сроке 11-14 недель беременности. Пациентки с гестационным сахарным диабетом согласно действующим клиническим рекомендациям и критериям IADPSG составили основную группу в исследовании, в котором были детально проанализированы клиничко-anamнестические, инструментальные данные с оценкой акушерских и неонатальных исходов. На втором этапе исследования, после подписания добровольного информированного согласия пациенткам было предложено проведение исследования внеклеточных везикул 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. Общая схема исследования представлена на рисунке 3.

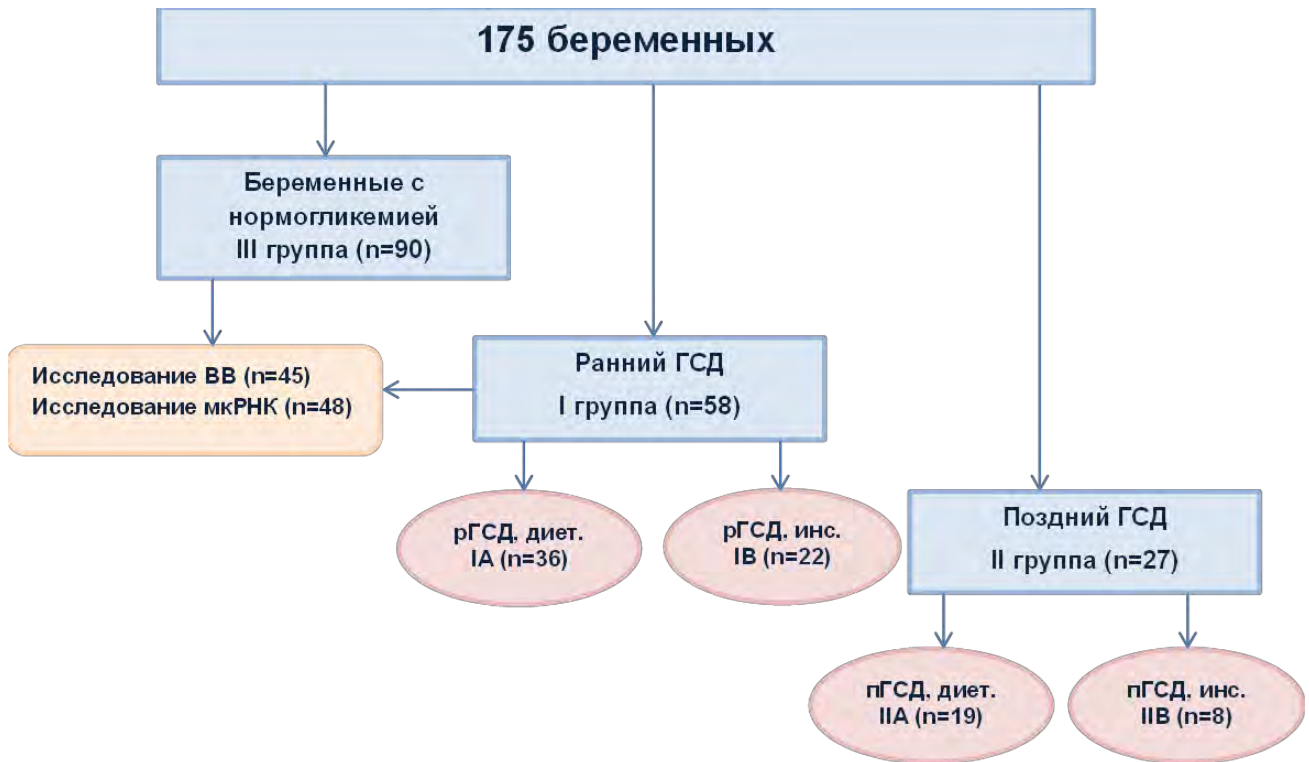


Рисунок 3. Дизайн исследования

2.1.2. Критерии включения в исследование

Согласно данным современных исследований, клиническим рекомендациям и протоколам ведущих мировых акушерских сообществ (IADPSG), гестационный сахарный диабет определяется как гипергликемия, которая впервые диагностируется во время беременности и остается ниже порогового значения для манифестного диабета. Диагноз ГСД устанавливается на основании лабораторного определения уровня гликемии и проведения ПГТТ. Диагноз ставился на основании хотя бы одного значения уровня глюкозы венозной плазмы из трех, который был бы равным или выше порогового при проведении ПГТТ. В последнее время в структуре ГСД стали выделять ранний и поздний, а в иностранной литературе появился термин «early» (диагностированный до 24 недель гестации) и «late» (диагностированный в сроке 24—32 недель по результатам ПГТТ) ГСД. В этой связи в нашем исследовании мы также использовали деление на ранний и поздний ГСД.

Диагноз ранний ГСД устанавливался после получения повышенных значений гликемии при проведении ПГТТ в 11-14 недель беременности, и пациенткам этой группы рекомендовалось контролирование целевых значений глюкозы крови (целевые значения менее 5,1 ммоль/л натощак и 7 ммоль/л через 1-1,5 часа после еды). После проведения повторного ПГТТ в 24-28 недель всем пациенткам с нарушением углеводного обмена была назначена диетотерапия с полным исключением легкоусвояемых углеводов и ограничением жиров.

Диагноз поздний ГСД устанавливался после получения повышенных значений гликемии при проведении ПГТТ в стандартные сроки, если в сроке беременности 11-14 недель результаты ПГТТ были в норме.

В свою очередь, инсулинотерапия пациенткам назначалась при: невозможности достижения целевых показателей гликемии (два и более нецелевых значения гликемии при соблюдении рекомендаций по диетотерапии) в течение 1–2 недель самоконтроля; наличии признаков диабетической фетопатии по данным экспертного УЗИ-исследования.

Нами были подробно изучены данные семейного и личного анамнеза пациенток, особенности течения беременности, УЗ-динамика роста плодов, течение и исходы родов, особенности раннего неонатального периода и заболеваемости среди новорожденных

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.

Критерии невключения:

1. Многоплодная беременность;
2. Тяжелая соматическая патология у беременной;
3. Предлежание плаценты;
4. Метаболический синдром;
5. Преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты;
6. Пороки развития матки;
7. Пациентки на иммуносупрессивной терапии (с трансплантированными органами или активацией аутоиммунного заболевания).

Критерии исключения:

1. Хромосомные аномалии у плода;
2. Врожденные пороки развития плода;
3. Антенатальная гибель плода;
4. Отказ от участия в исследовании.

2.2. Методы исследования

Ведущими принципами при проведении исследования были:

1. Подробное изучение семейного и личного анамнеза пациенток, в частности: наследственность по СД 2 типа, наличие перенесенного

ГСД, рождение детей с весом более 4000.0 грамм в прошлые беременности, многоводие в предыдущие беременности, СПКЯ, артериальная гипертензия, привычное невынашивание, самопроизвольные аборты, ранний токсикоз.

2. Анализ течения и исходов беременности, раннего неонатального периода во всех изучаемых группах.
3. Сопоставление клинико-anamnestической характеристики пациенток, течения беременности и родов, перинатальных исходов с результатами молекулярных методов исследования.
4. Максимально приближенные друг к другу сроки выполнения исследований: биохимических, гемостазиологических, специальных методов, тестов функциональной диагностики для оценки состояния плода.
5. Использование различных методов статистической обработки данных для анализа результатов.

В работе применены следующие методы исследования пациенток: клинические (детальный сбор анамнеза, общий и акушерско-гинекологический осмотры), клинико-лабораторные, инструментальные (ультразвуковое исследование (УЗИ) плода – фетометрия), специальные (молекулярные анализы); определение размеров и концентрации внеклеточных везикул методом центрифугирования с дальнейшим использованием метода «Анализа траекторий наночастиц» (NTA), а также исследование микроРНК плазмы крови.

2.2.1. Общеклинические методы исследования

Данные семейного и личного анамнеза были изучены у всех пациенток с пристальной оценкой наиболее вероятных факторов развития ГСД. Анализировался соматический анамнез и акушерско-гинекологическая история, данные клинических и лабораторных

исследований. Отдельное внимание уделялось течению и исходам предыдущих беременностей, наличию аборт, выкидышей, гинекологической патологии, инструментальных хирургических вмешательств в полости матки.

Объективное обследование включало общий осмотр, измерение массы тела и роста с последующим определением ИМТ (индекса массы тела) и типа телосложения. Согласно классическим канонам пропедевтики, оценивали состояние сердечно-сосудистой, дыхательной, нервной, пищеварительной и мочевыделительной систем. При наружном акушерском исследовании определяли положение, предлежание, позицию плода; оценивали характер его двигательной активности; определяли частоту сердечных сокращений плода, а также соответствие размеров матки сроку беременности, наличие многоводия, измеряли окружность живота и высоту стояния дна матки. Гинекологический осмотр включал осмотр шейки матки в зеркалах и бимануальное влагалищное исследование. Всем пациенткам проводились стандартные методы дообследования: определение группы крови и резус-фактора, клинические и биохимические анализы крови, гемостазиограмма, общий анализ мочи, анализ мазка влагалищного отделяемого.

Диагноз ГСД устанавливался на основании полученных значений проведенных ПГТТ в 11-14 и 24-28 недель беременности, согласно критериям IADPSG (табл. 3). Тест выполнялся на фоне обычного питания (не менее 150г углеводов в день), как минимум, в течение 3 дней, предшествующих исследованию. Тест проводился утром натощак после 8-14-часового ночного голодания. Последний прием пищи обязательно содержал 30-50 г углеводов. Пить воду не запрещалось. Лекарственные средства, влияющие на уровень глюкозы крови (поливитамины и препараты железа, содержащие углеводы, глюкокортикоиды, β -адреноблокаторы), по возможности, принимались после окончания теста.

Забор крови производился в холодную пробирку (лучше вакуумную), содержащую консерванты: фторид натрия (6 мг на 1 мл цельной крови), как

ингибитор энлазы для предотвращения спонтанного гликолиза, а также EDTA или цитрат натрия, как антикоагулянты. Пробирка помещалась в воду со льдом. Затем немедленно (не позднее ближайших 30 минут) кровь центрифугировалась для разделения плазмы и форменных элементов. Плазма переносилась в другую пластиковую пробирку. В этой биологической жидкости и производилось определение уровня глюкозы.

Этапы выполнения ПГТТ:

1-й этап. После забора первой пробы плазмы венозной крови натощак уровень глюкозы измеряется немедленно, т.к. при получении результатов, указывающих на манифестный (впервые выявленный) СД, дальнейшая нагрузка глюкозой не проводится и тест прекращается. При невозможности экспресс-определения уровня глюкозы тест продолжается и доводится до конца. При выявлении ГСД по данным первой пробы тест нагрузкой глюкозы продолжается.

2-й этап. При продолжении теста пациентка должна в течение 5 минут выпить раствор глюкозы, состоящий из 75г сухой (ангидрита или безводной) глюкозы, растворенной в 250-300мл теплой (37-40°C) питьевой негазированной (или дистиллированной) воды. Если используется моногидрат глюкозы, для проведения теста необходимо 82,5г вещества. Начало приема раствора глюкозы считается началом теста.

3-й этап. Следующие пробы крови для определения уровня глюкозы венозной плазмы берутся через 1 и 2 часа после нагрузки глюкозой. При получении результатов, указывающих на ГСД после 2-го забора крови, тест не прекращается и третий забор крови также производится.

Для целей нашего исследования все участники (т.е. также те, у кого не было факторов риска ГСД) прошли 2-часовой 75-граммовый ПГТТ в первом триместре (ПГТТ-1). ПГТТ был выполнен снова в 24-28 недель (ПГТТ-2),

если после ПГТТ-1 и контроле гликемии не потребовалось назначение инсулинотерапии.

Таблица 3

Критерии ГСД по результатам ПГТТ с 75 г глюкозы

Глюкоза венозной плазмы	Ммоль/л
Натошак	$\geq 5,1$
Через 1 час	$\geq 10,0$
Через 2 часа	$\geq 8,5$

2.2.2. Функциональные методы исследования

▪ Ультразвуковое исследование

Все беременные проходили ультразвуковое исследование на ультразвуковой системе Voluson E10 Expert (GE Healthcare, Австрия) с использованием 4D трансабдоминального конвексного мультичастотного датчика (2–8 MHz), работающих в режиме реального времени, в 18-20, 22-24, 28-30, 32-34, 36-38 недель беременности. Особое внимание во время исследования уделялось поиску признаков фетопатии плода: размеры диаметра живота плода ≥ 75 перцентилей, гепато-спленомегалия, двухконтурность головки плода, утолщение шейной складки, отек и утолщение подкожно-жирового слоя, диспропорция размеров тела (увеличение размеров окружности живота в сравнении с размерами головки плода), измерению фетометрических показателей плода для расчёта предполагаемой массы и перцентильных значений, оценке количества и качества околоплодных вод. Стоит отметить, что расчёт объёма околоплодных вод осуществлялся с помощью метода «карманов», при котором нормативными значениями считали показатели от 12 до 20 см. Диагноз многоводие выставлялся при величине «карманов» более 20 см, а маловодие – менее 12 см.

Ультразвуковое исследование включало измерение нескольких биометрических параметров, которые включены в формулу для расчета

предполагаемой массы плода: бипариетальный размер головки плода (БПР), окружность головы (ОГ), окружность живота (ОЖ) и длина бедра (ДБ). Предполагаемая масса плода рассчитывалась по формуле F. Hadlock:

$$\text{Log}_{10} \text{BW} = 1,3598 + 0,051 (\text{AC}) + 0,1844 (\text{FL}) - 0,0037 (\text{AC} \times \text{FL}), \text{ или}$$

$$\text{Log}_{10} \text{BW} = 1,4787 + 0,001837 (\text{BPD})^2 + 0,0458 (\text{AC}) + 0,158 (\text{FL}) - 0,003343 (\text{AC} \times \text{FL}) (\text{г}),$$

где: HC – окружность головки плода; AC – окружность живота плода; BPD – бипариетальный размер головки плода; FL – длина бедренной кости. Абсолютные значения ПМП (в граммах) переводились в процентильные значения в соответствии со сроком беременности на основании данных проекта INTERGROWTH-21st16.

▪ **Ультразвуковое доплерометрическое исследование**

Допплерометрическое исследование проводилось всем женщинам при помощи ультразвуковых сканеров Hitachi HI VISION Preirus (Япония), GE Voluson E8 (США), для выявления параметров плодово-плацентарного и маточно-плацентарного кровотоков в режиме пульсовой доплеровской волны. Допплеровское исследование кровотока проводилось с определением пульсационного индекса кровотока в маточных артериях (ПИ МА), артериях пуповины (ПИ АП) и средней мозговой артерии (ПИ СМА).

▪ **Аntenатальная кардиотокография**

Аntenатальная кардиотокография использовалась для оценки состояния плода в III триместре с 32 недели гестации, при помощи аппаратов антенатальной кардиографии на аппаратах «SonicaidTeam» (Великобритания) и «УНИКОС-01». Запись производилась в течение минимум 40 минут в положении беременной на боку. Скорость записи ленты составляла 1 см в минуту. При анализе данных кардиотокограмм внимание уделялось базальной частоте сердцебиения плода, выраженности вариабельности

базального ритма сердечных сокращений плода, количеству и амплитуде акцелераций, наличию и, в таком случае, характеру, амплитуде и количеству децелераций. Определялся показатель состояния плода (ПСП) определяли по формуле, разработанной в отделении функциональной диагностики ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» МЗ РФ. При оценке данных ПСП исходили из того, что его величина менее 1,05 указывает на отсутствие нарушений состояния плода; интервал показателей от 1,05-2,0 свидетельствует о начальных проявлениях внутриутробной гипоксии плода; интервал от 2,0-3,0 – о выраженном нарушении состояния плода; более 3,0 – о тяжелом состоянии плода.

2.2.3. Специальные методы исследования

▪ Исследование внеклеточных везикул

Венозная кровь пациентов объемом 10 мл была собрана в вакутейнеры, содержащие ЭДТА (BD@ Vacutainer) в сроки беременности 11-14 недель. Затем полученную кровь центрифугировали при 2000g в течение 10 мин при +4°C. Полученная плазма была отобрана, разделена на аликвоты по 3 мл и помещена в криопробирки для хранения при -80°C. Затем размороженную плазму объемом 2,8 мл довели PBS (фосфатно-солевым буфером) до 40 мл и центрифугировали при 2000g в течение 30 мин при +4°C. Полученный супернатант затем переливали в центрифужные стаканы и центрифугировали при 12000g в течение 45 мин при +4°C, и образовавшийся супернатант вновь центрифугировали при 108000g в течение 120 мин при +4°C. Осадок растворяли в коммерческом PBS (Gibco) (100 мкл) и хранили при -80°C. Сбор биологического материала и хранение проводилось при участии Биобанка ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова».

Распределение частиц по размерам и количественные концентрации изолированных везикул измеряли с помощью метода «Анализа траекторий наночастиц» (NTA) с использованием прибора Nanosight LM10 HS (NanoSightLtd., Эймсбери, Великобритания). С помощью NTA частицы

автоматически отслеживаются и определяются по размеру на основе броуновского движения и коэффициента диффузии. Все измерения проводились в соответствии с рекомендациями стандарта ASTM E2834-12. Вкратце, образцы разбавляли PBS до конечной концентрации около $1,5 \times 10^8$ частиц/мл. В качестве элементов управления в этой методике использовались контрольная среда и отфильтрованные PBS. Каждое видео броуновского движения частиц было записано в течение 1 минуты при комнатной температуре с пассивным считыванием температуры и следующими настройками камеры (калибровка: 166 нм/пиксель; размытие: автоматическое; порог обнаружения: 8, минимальная длина дорожки: автоматическая, минимальный ожидаемый размер частиц 30 нм, температура: 24,7°C, вязкость: 0,90 Па*с.), оптимизированными для ВВ (12-18 видео на один образец). Видео обрабатывались с помощью аналитического программного обеспечения Nanoparticle Tracking Analysis версии 2.3 build 0033 (NanoSightLtd., Эймсбери, Великобритания). Порог обнаружения был одинаковым во всех образцах (2 мульти). Для каждого образца было выполнено три записи.

▪ **Исследование микроРНК.**

У пациенток, входящих в группу контроля (34 женщины с физиологическим течением беременности) и в группу ГСД (14 женщин), осуществляли забор периферической крови на 11-14 неделе беременности в пробирки VACUETTE® с ЭДТА, центрифугировали в течение 20 минут при 300g при 4°C, отбирали плазму и повторно центрифугировали в течение 10 минут при 14500g. РНК выделяли из 200 мкл плазмы крови набором miRNeasy Serum/Plasma kit (Qiagen). Глубокое секвенирование малых некодирующих РНК, в том числе мкРНК, в плазме крови проводили с использованием набора по синтезу кДНК-библиотек NEBNext® Multiplex Small RNA Library Prep Set for Illumina® (Set11, New England Biolab®, Germany) на платформе NextSeq 500 platform (Illumina, USA). Глубокое

секвенирование проводили с использованием набора по синтезу кДНК-библиотек NEBNext® Multiplex Small RNA Library Prep Set for Illumina® (Set11, New England Biolab®, Germany) на платформе NextSeq 500 platform (Illumina, USA). РНК из экзосомальной фракции 3,8 мл плазмы периферической крови пациенток была выделена набором miRNeasy Micro kit (Qiagen). Обратную транскрипцию мкРНК плазмы периферической крови (5 мкл элюата, собранного с колонки miRNeasy Serum/Plasma, Qiagen) или мкРНК экзосом плазмы периферической крови (5 мкл элюата, собранного с колонки miRNeasy Micro kit, Qiagen) проводили набором miScript II RT Kit (Qiagen) с последующей количественной ПЦР в режиме реального времени набором miScript SYBR Green PCR Kit (Qiagen) с использованием смыслового праймера, специфичного для исследуемой мкРНК, в амплификаторе StepOnePlus™ (Applied Biosystems). Сравнение уровня экспрессии мкРНК в контрольных и исследуемых образцах относительно эндогенной референсной мкРНК выполняли методом ΔCt , где $\Delta Ct = (Ct)_{si} - (Ct)_{ni}$; Ct – значение цикла амплификации в точке пересечения кинетической кривой накопления продукта амплификации с линией порогового уровня флуоресценции, который определяется автоматически программным обеспечением амплификатора StepOnePlus; $(Ct)_{si}$ – значение порогового цикла амплификации кДНК анализируемой мкРНК в образце; $(Ct)_{ni}$ – значение порогового цикла амплификации кДНК нормировочной эндогенной мкРНК в образце. В качестве нормировочной эндогенной мкРНК для учета эффективности выделения РНК, синтеза кДНК и ее амплификации была выбрана hsa-miR-1037-3p ввиду стабильной экспрессии во всех анализируемых образцах.

2.2.4. Анализ течения неонатального периода у новорожденных

Анализ состояния новорожденных проводился согласно общепринятым клиническим рекомендациям и внутреннему протоколу Центра. Течение раннего неонатального периода было оценено у 175 новорожденных. Все

дети сразу после рождения осматривались неонатологом, определялись оценка их состояния по шкале Апгар на 1-й и 5-й минутах жизни, масса, рост, окружности головы, плеч и живота. Оценивались признаки фетопатии новорожденных: вес более 4000.0 грамм, отечность тканей, желтушность кожных покровов, количество сыровидной смазки, красновато-синюшный оттенок кожи, наличие петехий, повышенный уровень гемоглобина, затрудненное дыхание. Оценивалось состояние сердечно-сосудистой, дыхательной, нервной систем плода. На 2-ые и 14-ые часы жизни определялась глюкоза крови у плода, а также выполнялись УЗ-исследования головного мозга и ЭХО-КГ.

2.2.5. Методы статистической обработки данных

Все полученные результаты наблюдения и обследования вносились в специально разработанную тематическую карту и в электронные таблицы MS Excel. Статистический анализ проводился с использованием программы StatTech v. 2.8.2 (разработчик – ООО «Статтех», Россия). Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерия Колмогорова-Смирнова (при числе исследуемых более 50). Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывались с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD), границ 95% доверительного интервала (95% ДИ). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1 – Q3). Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Сравнение двух групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, при условии равенства дисперсий выполнялось с помощью t-критерия Стьюдента. Сравнение двух групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с

помощью U-критерия Манна-Уитни. Сравнение трех и более групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью критерия Краскела-Уоллиса, апостериорные сравнения – с помощью критерия Данна с поправкой Холма. Сравнение процентных долей при анализе четырехпольных таблиц сопряженности выполнялось с помощью критерия хи-квадрат Пирсона (при значениях ожидаемого явления более 10), точного критерия Фишера (при значениях ожидаемого явления менее 10). Анализ значимости различий исследуемых микроРНК в группе с ГСД и контрольной группой соответствующего срока гестации выполнен с использованием двухстороннего теста Вилкоксона-Манна-Уитни. Для анализа взаимосвязи уровня исследуемых микроРНК и вероятности развития ГСД был использован метод логистической регрессии. Для подбора оптимальной предсказательной модели использовался алгоритм пошагового исключения предикторов с оценкой изменения качества на основе функции максимального правдоподобия и количества предикторов. Рассчитанные на основе модели значения вероятности были соотнесены с априорными данными принадлежности к одной из двух групп с учетом оптимального соотношения чувствительности и специфичности. Анализ выполнен в среде Rверсии 3.2.4 с использованием пакетов «ggplot» для визуализации и «caret» для диагностики и подгонки моделей. Для оценки параметров чувствительности и специфичности модели проводился ROC-анализ, в результате определялось значение оптимального порога для линейного классификатора для выбранных значений чувствительности и специфичности модели.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Клиническая характеристика пациенток во время беременности

3.1.1. Клинико-анамнестическая характеристика

В соответствии с целью и задачами нашего исследования, на первоначальном этапе проведен сравнительный анализ клинико-анамнестических данных 85 беременных с гестационным сахарным диабетом (I группа – пациентки с ранним ГСД (n=58); II – пациентки с поздним ГСД (n=27) и 90 соматически здоровых беременных без отягощенного акушерско-гинекологического анамнеза. I и II группы, в свою очередь, были подразделены на подгруппы в зависимости от терапии: IA подгруппа – пациентки с ранним ГСД, находящиеся на диетотерапии (n=36), IB подгруппа – 22 пациентки с ранним ГСД, находящиеся на инсулинотерапии, IIА подгруппа – пациентки с поздним ГСД, находящиеся на диетотерапии (n=19), IIВ подгруппа – 8 пациенток с поздним ГСД, находящиеся на инсулинотерапии. В группе с ранним началом ГСД 37,9% беременных получали инсулинотерапию, против 29,6% беременных - с поздним началом ГСД. Таким образом, чем раньше был поставлен диагноз ГСД, тем выше оказалась вероятность потребности в дальнейшем инсулинотерапии.

Средний возраст обследованных пациенток, составил 34,9 (5,1) лет, с разбросом вариант от 23 до 45 лет. Возраст беременных в I группе составил 38,0 (34,0; 41,7) лет, тогда как в IA подгруппе 38,5 (35,0; 41,2) лет, во IB подгруппе 35,5 (33,2; 41,5) лет. Возраст беременных во II группе составил 36,0 (32,0; 39,0) лет, во IIА подгруппе 36,0 (31,0; 39,0) лет, во IIВ подгруппе 36,0 (36,0; 40,0) лет, и, наконец, в группе контроля (III группе) - 34,0 (30,0; 37,0) лет (табл. 4).

Распространенность ГСД повышалась с увеличением возраста (<25 лет, 2,5%; 25-29 лет, 7,5%; 30-34 года, 17,5%; 35-39 лет, 36,2%; ≥40 лет, 36,2%) (табл. 5).

Таблица 4

Средний возраст обследованных женщин

Возраст	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.)	Норма	
Средний возраст, лет	38,5 (35,0; 41,2)	35,5 (33,2; 41,5)	36,0 (31,0; 39,0)	36,0 (36,0; 40,0)	34,0 (30,0; 37,0)	<0,001*
Примечания:	Количественные данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1 – Q3). Используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса. *IA-III – p <0,001					

Таблица 5

Возрастное распределение по группам

Возраст	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.)	Норма	
< 25 лет	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (10,5)	0 (0,0)	4 (4,4)	0,126
25-29 лет	2 (5,6)	2 (9,1)	2 (10,5)	1 (12,5)	17 (18,9)	0,098
30-34 года	6 (16,7)	6 (27,3)	2 (10,5)	2 (25,0)	26 (28,9)	0,642
35-39 лет	12 (33,3)	6 (27,3)	9 (47,4)	2 (25,0)	36 (40,0)	0,532
≥ 40 лет	16 (44,4)	8 (36,4)	4 (21,1)	3 (37,5)	7 (7,8)	0,004*
Примечания:	Количественные данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1 – Q3). Используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса. *IA-III – p= 0,004					

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

($p=0,045$), между группой II и III статистически значимых различий не было отмечено (табл. 6). Анализ возрастного распределения женщин показал, что пациентки в возрастном диапазоне старше 40 лет статистически значимо чаще встречались в группе с ранним ГСД (41,4%), особенно в подгруппе на диетотерапии – 44,4%, по сравнению с группой сравнения - 7,8% ($p=0,004$).

Таблица 6

Возраст обследованных в зависимости от гликемического статуса

Показатель	Категории	Возраст (полных лет)			p
		Me	Q ₁ – Q ₃	n	
Гликемический статус	Беременные с ранним ГСД	38,00	34,00 – 41,75	58	<0,001*
	Беременные с поздним ГСД	36,00	32,00 – 39,00	27	
	Беременные с нормогликемией	34,00	30,00 – 37,00	90	
Примечания:	Количественные данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q ₁ – Q ₃). Используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса. *I-III – $p < 0,001$				

При изучении социально-экономического статуса среди обследованных женщин в уровне образования и материально-бытовых условий статистически значимых различий не было отмечено.

Данные об исходном ИМТ у обследованных представлены в таблице 7. ИМТ составил в I группе – 23,95 (22,00; 28,85), в IA – 23,48 (21,75; 27,95), в IB – 25,50 (23,12; 31,62), во II группе – 22,10 (19,00; 26,70), во IIA – 22,60 (19,50; 26,50), во IIB – 19,00 (19,00; 28,50), в III группе – 22,10 (20,00; 25,93). Согласно представленным табл. 7 данным, было установлено, что пациентки с ранним ГСД имели значимо больший ИМТ, по сравнению с группой сравнения ($p=0,018$), а наибольшие показатели отмечались в IB подгруппе ($p= 0,027$).

Анализ ИМТ 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.)	Норма	
ИМТ, кг/м ²	23,48 (21,75; 27,95)	25,50 (23,12; 31,62)	22,60 (19,50; 26,50)	19,00 (19,00; 28,50)	22,10 (20,00; 25,93)	0,027*
Примечания:	Количественные данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1 – Q3). Используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса. *IB-III – p=0,027					

Нами был выполнен анализ способа **наступления беременности** (самопроизвольная беременность и беременность в результате ВРТ) (табл. 8). При изучении методов наступления данной беременности проведенный анализ не показал достоверных различий между сравниваемыми подгруппами (p = 0,575).

Таблица 8

Особенности наступления данной беременности

Метод наступления беременности	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.)	Норма	
Самопроизвольная беременность	25 (69,4)	16 (72,7)	12 (63,2)	6 (75,0)	69 (76,7)	0,575
ВРТ	11 (30,6)	6 (27,3)	7 (36,8)	2 (25,0)	21 (23,3)	
Примечания:	Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Используемый метод: Хи-квадрат Пирсона.					

Результаты межгруппового анализа анамнеза пациенток по наследственной отягощенности сахарным диабетом 1, 2 типов, сердечно-сосудистым и онкологическим заболеваниям представлены в таблице 9.

Таблица 9

Наследственная отягощенность

Показатель	I группа n=58	II группа n=27	III группа n=90	p-value
	рГСД	пГСД	Норма	
СД 1 типа	3 (5,2)	2 (9,1)	4 (4,4)	0,683
СД 2 типа	25 (43,1)	8 (36,4)	21 (23,3)	0,037
ССЗ	28 (48,3)	10 (45,5)	44 (48,9)	0,959
Онкологические заболевания	10 (17,2)	8 (36,4)	23 (25,6)	0,182
Примечания:	Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Используемый метод: Хи-квадрат Пирсона.			

Таблица 10

Наследственная отягощенность по СД 2 типа

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.)	Норма	
СД 2 типа	12 (33,3)	13 (59,1)	7 (36,8)	2 (25,0)	21 (23,3)	0,029
Примечания:	Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Используемый метод: Хи-квадрат Пирсона.					

Анализ наследственной отягощенности пациенток выявил достоверные различия между группами. Шансы пациентов с отягощенной наследственностью по СД 2 типа в группе беременных с ГСД были выше в 2,307 раза, по сравнению с группой нормогликемических беременных,

различия шансов были статистически значимыми (95% ДИ: 1,191 – 4,467). При этом частота сахарного диабета 2 типа оказалась выше у родственников пациенток с ранним ГСД ($p=0,037$). Стоит отметить, что СД 2 типа значимо чаще встречался в IV подгруппе – 59,1% ($p=0,029$) (табл. 10). При анализе наследственности по СД 1 типа, не удалось установить статистически значимых различий ($p=0,683$), такой же результат мы получили при анализе наследственности по сердечно-сосудистым ($p=0,959$) и онкологическим заболеваниям ($p=0,182$).

При сравнительном анализе **экстрагенитальной патологии** в анамнезе выявлены статистически значимые различия между группами (табл. 11). Так, 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% ($p=0,033$). А заболевания мочевыделительной системы (хронические воспалительные заболевания чашечно-лоханочной и выделительной систем, мочекаменная болезнь, поражения клубочкового аппарата и т.п. $p=0,816$), заболевания органов ЖКТ (хронический гастрит, холецистит и т.п.; $p=0,643$), а также заболевания органов зрения (миопия, астигматизм и ретинодистрофия сетчатки, в том числе с хирургической коррекцией и т.п.; $p=0,699$) были в равной степени распространены между группами. Встречаемость патологии щитовидной железы ($p=0,642$) и варикозной болезни вен нижних конечностей ($p=0,226$) была также сопоставима между группами.

**Распространенность экстрагенитальной патологии у обследованных
женщин**

Показатель	I группа n=58	II группа n=27	III группа n=90	p-value
	рГСД	пГСД	Норма	
Патология щитовидной железы	15 (25,9)	8 (36,4)	25 (27,8)	0,642
Заболевания сердечно-сосудистой системы	15 (25,9)	5 (22,7)	9 (10,0)	0,033
Заболевания желудочно-кишечного тракта	9 (15,5)	5 (22,7)	19 (21,1)	0,643
Варикозная болезнь вен нижних конечностей	9 (15,5)	2 (9,1)	21 (23,3)	0,226
Заболевания мочевыделительной системы	13 (22,4)	4 (18,2)	22 (24,4)	0,816
Заболевания органов зрения	18 (31,0)	8 (36,4)	34 (37,8)	0,699
Патология органов дыхания	6 (10,3)	3 (13,6)	12 (13,3)	0,848
Примечания:	Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Используемый метод: Хи-квадрат Пирсона.			

При изучении особенностей гинекологического анамнеза обследованных, представленного в таблице 12, выявлено, что фактически все нозологии в группах встречались одинаково часто. Однако частота СПКЯ была достоверно выше в подгруппе пациенток с ранним ГСД на инсулинотерапии – 22,7% (p=0,020), по сравнению с другими обследованными. Частота оперативных вмешательств на матке была достоверно выше в группе с ранним ГСД (p=0,036) по сравнению с группой сравнения. Обращает внимание, что миома матки чаще встречалась в основной группе, но статистически значимых различий не было отмечено (p=0,200). Патология шейки матки (эктопия, дисплазия), сальпингоофорит,

доброкачественные заболевания молочных желез, доброкачественные опухолевидные образования яичников были одинаково распространены между подгруппами.

Таблица 12

Структура гинекологической заболеваемости обследованных пациенток

Показатель	IA подгруппа n=36	IB подгруппа n=22	IIA подгруппа n=19	IIB подгруппа n=8	III группа n=90	p- value
	pГСД (диета)	pГСД (инс.)	пГСД (диета)	пГСД (инс.)	Норма	
Заболевания шейки матки	15 (41,7)	8 (36,4)	7 (36,8)	2 (25,0)	38 (42,2)	0,877
Эндометриоз/ аденомиоз	5 (13,9)	3 (13,6)	1 (5,3)	0 (0,0)	13 (14,4)	0,798
Миома матки	13 (36,1)	4 (18,2)	3 (15,8)	1 (12,5)	16 (17,8)	0,200
Заболевания молочных желез	2 (5,6)	1 (4,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	5 (5,6)	0,863
СПКЯ	1 (2,8)	5 (22,7)	3 (15,8)	0 (0,0)	4 (4,4)	0,020
Хронический аднексит	2 (5,6)	2 (9,1)	1 (5,3)	0 (0,0)	5 (5,6)	0,959
Доброкачественные опухолевидные образования яичников	5 (13,9)	3 (13,6)	2 (10,5)	0 (0,0)	16 (17,8)	0,843
Оперативные вмешательства на матке (полипэктомия и т.д.)	12 (33,3)	5 (22,7)	2 (10,5)	0 (0,0)	13 (14,4)	0,036
Бесплодие	15 (41,7)	8 (36,4)	8 (42,1)	2 (25,0)	31 (34,4)	0,755
Примечания:	Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Используемый метод: Хи-квадрат Пирсона.					

Анализ репродуктивного анамнеза, отраженный в таблице 13, показал, что повторнوبرеменные 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. Так, в I группе беременностей в

результате ЭКО – 29,3%, во II группе – 31,8%, а в группе контроля – 23,3%, что не имело статистически значимых различий ($p=0,601$). При межгрупповом анализе также не удалось установить статистически значимых различий ($p=0,575$).

Внематочная беременность в анамнезе чаще встречалась в подгруппе ПВ – 25,0% по сравнению с контрольной группой – 7,8% ($p=0,006$). Частота самопроизвольных репродуктивных потерь была сопоставима во всех группах.

Анализ особенностей течения предыдущих беременностей показал, что частота гестационного сахарного диабета оказалась статистически значимо выше у пациенток с ранним ГСД (42,9%) по сравнению с группой сравнения (4,8%) ($p<0,001$), а в подгруппе раннего ГСД на инсулинотерапии – 58,3% ($p<0,001$). Таким образом, каждая последующая беременность осложняется повторным развитием гестационного сахарного диабета, требующего в большинстве случаев назначения инсулинотерапии. Рождение крупного плода в анамнезе также чаще встречалось у пациенток с ранним ГСД, и была получена статистически значимая разница с группой сравнения ($p=0,047$).

Полученные данные позволяют сделать выводы и описать факторы, характерные для пациенток с ранним ГСД. В первую очередь, средний возраст беременных с ранним ГСД был достоверно выше, чем в группе сравнения. Пациентки с ранним ГСД имели более высокий индекс массы тела и более высокую частоту отягощенного по сахарному диабету 2 типа семейного анамнеза. Что касается гинекологических заболеваний, полигенное эндокринное расстройство СПКЯ также чаще отмечалось у пациенток с ранним ГСД. Акушерский анамнез сопровождался повторным развитием ГСД и рождением крупных детей в анамнезе у этой же группы обследованных женщин.

Репродуктивный анамнез 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.)	Норма	
Первобеременные, первородящие	9 (25,0)	3 (13,6)	9 (47,4)	0 (0,0)	31 (34,4)	0,057
Повторнобеременные, первородящие	11 (30,6)	7 (31,8)	4 (21,1)	8 (100,0)	21 (23,3)	0,094
Повторнобеременные, повторнородящие	16 (44,4)	12 (54,5)	6 (31,6)	0 (0,0)	38 (42,2)	0,124
Беременности в результате ЭКО	11 (30,6)	6 (27,3)	7 (36,8)	0 (0,0)	21 (23,3)	0,575
Внематочная беременность в анамнезе	0 (0,0)	4 (18,2)	0 (0,0)	2 (25,0)	7 (7,8)	0,006
Неразвивающаяся беременность в анамнезе	10 (27,8)	7 (31,8)	3 (15,8)	3 (37,5)	19 (21,1)	0,546
Самопроизвольный выкидыш в анамнезе	12 (33,3)	4 (18,2)	2 (10,5)	3 (37,5)	28 (31,1)	0,294
ГСД в анамнезе	5 (31,2)	7 (58,3)	1 (16,7)	0 (0,0)	2 (4,8)	<0,001
Рождение крупного плода в анамнезе	5 (31,2)	3 (25,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (7,1)	0,047
Примечания:	Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Используемый метод: Хи-квадрат Пирсона. Межгрупповой анализ: Первобеременные первородящие: IIA-IIB – p=0,031 Внематочная беременность: IIB-III – p=0,006 ГСД в анамнезе: IA-III – p <0,001, IB-III – p <0,001 Крупный плод в анамнезе: IA-III – p=0,047					

3.1.2. Особенности течения беременности

Следующим этапом нашей работы было проведение анализа течения беременности в обследованных группах.

Анализ течения I триместра беременности, представленный в таблице 14, показал, что ретрохориальная гематома чаще наблюдалась в группе с поздним ГСД (22,7%), по сравнению с группой сравнения (13,3%), но

статистически значимых различий получено не было ($p=0,525$). Гормональная поддержка назначалась с равной частотой во всех группах и подгруппах – 41,7%, 45,5%, 47,4%, 37,5% и 44,4%, соответственно, и значимых различий между группами не выявлено.

Важным является факт, что, начиная уже с I триместра, фиксируются нарушения микробиоты влагалища, а именно вульвовагинальный кандидоз, ассоциированный с нарушением углеводного обмена. Статистически значимые различия получены в подгруппе IV – пациентки с ранним ГСД на инсулинотерапии в сравнении с группой беременных с нормогликемией ($p=0,003$).

Таблица 14

Течение беременности у обследованных женщин в I триместре

Показатель	IA подгруппа n=36	IV подгруппа n=22	IIA подгруппа n=19	IIВ подгруппа n=8	III группа n=90	p- value
	рГСД (диета)	рГСД (инс.)	пГСД (диета)	пГСД (инс.)	Норма	
Ранний токсикоз	8 (22,2)	4 (18,2)	3 (15,8)	0 (0,0)	19 (21,1)	0,880
Угроза прерывания	8 (22,2)	8 (36,4)	3 (15,8)	2 (25,0)	27 (30,0)	0,274
Ретрохориальная/ ретроамниотическая гематома	5 (13,9)	5 (22,7)	3 (15,8)	2 (25,0)	12 (13,3)	0,130
Респираторная инфекция	2 (5,6)	2 (9,1)	1 (5,3)	0 (0,0)	9 (10,0)	0,874
Анемия	1 (2,8)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	6 (6,7)	0,473
Гипотиреоз	5 (13,9)	3 (13,6)	4 (21,1)	1 (12,5)	16 (17,8)	0,870
Вульвовагинальный кандидоз	1 (2,8)	4 (18,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (1,1)	0,003*
Гормональная поддержка	15 (41,7)	10 (45,5)	9 (47,4)	3 (37,5)	40 (44,4)	0,423
Примечания:	Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Используемый метод: Хи-квадрат Пирсона. *Вульвовагинальный кандидоз: IV-III – $p=0,003$					

При анализе особенностей течения II триместра беременности (табл. 15) достоверные различия были получены в отношении угрозы прерывания: статистически значимо чаще это осложнение было диагностировано у пациенток с поздним ГСД по сравнению с беременными, у которых ГСД развивался в ранние сроки – 22,7% и 5,2%, соответственно ($p=0,009$).

Таблица 15

Течение беременности у обследованных женщин во II триместре

Показатель	IA подгруппа n=36	IB подгруппа n=22	IIA подгруппа n=19	IIB подгруппа n=8	III группа n=90	p- value
	pГСД (диета)	pГСД (инс.)	пГСД (диета)	пГСД (инс.)	Норма	
Угроза прерывания	2 (5,6)	1 (4,5)	4 (21,1)	3 (37,5)	22 (24,4)	0,045*
ИЦН	8 (22,2)	5 (22,7)	2 (10,5)	2 (25,0)	23 (25,6)	0,699
Хирургическая коррекция ИЦН	7 (19,4)	4 (18,2)	2 (10,5)	1 (12,5)	18 (20,0)	0,850
Акушерский пессарий	0 (0,0)	1 (4,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	5 (5,6)	0,513
Анемия	12 (33,3)	5 (22,7)	6 (31,6)	0 (0,0)	21 (23,3)	0,587
Гипотиреоз	7 (19,4)	4 (18,2)	5 (26,3)	1 (12,5)	15 (16,7)	0,844
Респираторная инфекция	4 (11,1)	3 (13,6)	3 (15,8)	0 (0,0)	12 (13,3)	0,950
Отеки	1 (2,8)	1 (4,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (1,1)	0,770
Вульвовагинальный кандидоз	2 (5,6)	6 (27,3)	3 (15,8)	0 (0,0)	6 (6,7)	0,037*
Дисбиоз влагалища	12 (33,3)	4 (18,2)	8 (42,1)	2 (25,0)	27 (30,0)	0,569
Бактериурия	2 (5,6)	0 (0,0)	2 (10,5)	0 (0,0)	2 (2,2)	0,339
Примечания:	Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Используемый метод: Хи-квадрат Пирсона. *Угроза прерывания: IIB-IB – $p=0,045$ **Вульвовагинальный кандидоз: IB-III – $p=0,037$					

В свою очередь, частота бактериурии в группе позднего ГСД на диетотерапии была в 5 раз выше (10,5%) в сравнении с группой сравнения (2,2%), но это не было статистически значимо ($p=0,339$). Также и встречаемость дисбиотических нарушений влагалищной микробиоты в группе позднего ГСД на диетотерапии – 42,1%, что выше на 12% в сравнении с группой сравнения – 30,0% ($p=0,569$). Частота ИЦН, анемии, гипотиреоза, респираторных инфекций и отеков беременных статистически значимо не различались.

Анализ течения III триместра беременности, представленный в таблице 16, позволил выявить, что многоводие преобладало в группе женщин с поздним ГСД по сравнению с группой пациенток с нормогликемией – 13,6% и 1,1%, соответственно ($p=0,014$), а также в группе женщин с ранним ГСД по сравнению с беременными с нормогликемией – 8,6% и 1,1%, соответственно ($p=0,047$). При внутригрупповом разборе данные показатели также оказались значимы: в IV подгруппе – 22,7% ($p=0,022$), в ПА подгруппе – 15,8% ($p=0,018$). Дисбиотические нарушения влагалищной микробиоты в третьем триместре имели практически равную частоту в подгруппах. Вульвовагинальный кандидоз чаще встречался в подгруппе пациентов с поздним ГСД на диетотерапии – 15,8% по сравнению с группой контроля – 4,4%, но статистически значимой разницы получено не было ($p=0,410$). Респираторные инфекции более часто отмечались в IV подгруппе – 13,6%, по сравнению с нормально протекающей беременностью – 2,2%, но значимых различий не выявлено ($p=0,078$). Заслуживает внимания тот факт, что гипертензивные расстройства беременных, а именно гестационная артериальная гипертензия, статистически значимо чаще встречалась в подгруппе пациенток с ранним ГСД на диетотерапии в сравнении с группой сравнения ($p=0,040$). Преэклампсия была выявлена у одной беременной из I группы, а из II группы – у 2 беременных. Встречаемость таких осложнений как анемия, гипотиреоз, угрожающие преждевременные роды, мочевиная инфекция была сопоставимой между сравниваемыми группами.

Течение III триместра беременности 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
	pГСД (диета)	pГСД (инс.)	пГСД (диета)	пГСД (инс.)	Норма	
Угроза преждевременных родов	4 (11,1)	4 (18,2)	3 (15,8)	2 (25,0)	16 (17,8)	0,820
Профилактика РДС плода	1 (2,8)	1 (4,5)	1 (5,3)	1 (12,5)	11 (12,2)	0,202
Отеки	3 (8,3)	4 (18,2)	2 (10,5)	0 (0,0)	15 (16,7)	0,650
ГАГ/ХАГ	7 (19,4)	1 (4,5)	2 (10,5)	2 (25,0)	4 (4,4)	0,040*
Преэклампсия	0 (0,0)	1 (4,5)	2 (10,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	0,452
Многоводие	0 (0,0)	5 (22,7)	3 (15,8)	0 (0,0)	1 (1,1)	<0,001**
Анемия	15 (41,7)	9 (40,9)	9 (47,4)	3 (37,5)	36 (40,0)	0,980
Гипотиреоз	7 (19,4)	4 (18,2)	5 (26,3)	2 (25,0)	17 (18,9)	0,920
Респираторная инфекция	4 (11,1)	3 (13,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (2,2)	0,078
Носительство СГВ	1 (2,8)	2 (9,1)	1 (5,3)	0 (0,0)	9 (10,0)	0,666
Вульвовагинальный кандидоз	2 (5,6)	1 (4,5)	3 (15,8)	0 (0,0)	4 (4,4)	0,410
Дисбиоз влагалища	6 (16,7)	6 (27,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	16 (17,8)	0,177
Мочевая инфекция	0 (0,0)	1 (4,5)	1 (5,3)	0 (0,0)	2 (2,2)	0,716
Примечания:	Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Используемый метод: Хи-квадрат Пирсона. *ГАГ: IA-III – p=0,040 **Многоводие: IB-IA – p=0,022, IB-III – p < 0,001, IIA-III – p=0,018					

Средняя прибавка массы тела среди женщин в группе беременных с нормогликемией составила 12,36 (5,51) кг, в группе с ранним ГСД на диетотерапии 10,18 (6,00) и инсулинотерапии 10,10 (5,71) кг, соответственно, а среди женщин с поздним ГСД на диетотерапии - 13,55

(6,06) и 3,50 (2,29) кг соответственно, и эти различия имели статистическую значимость ($p=0,010$) (рисунок 4).

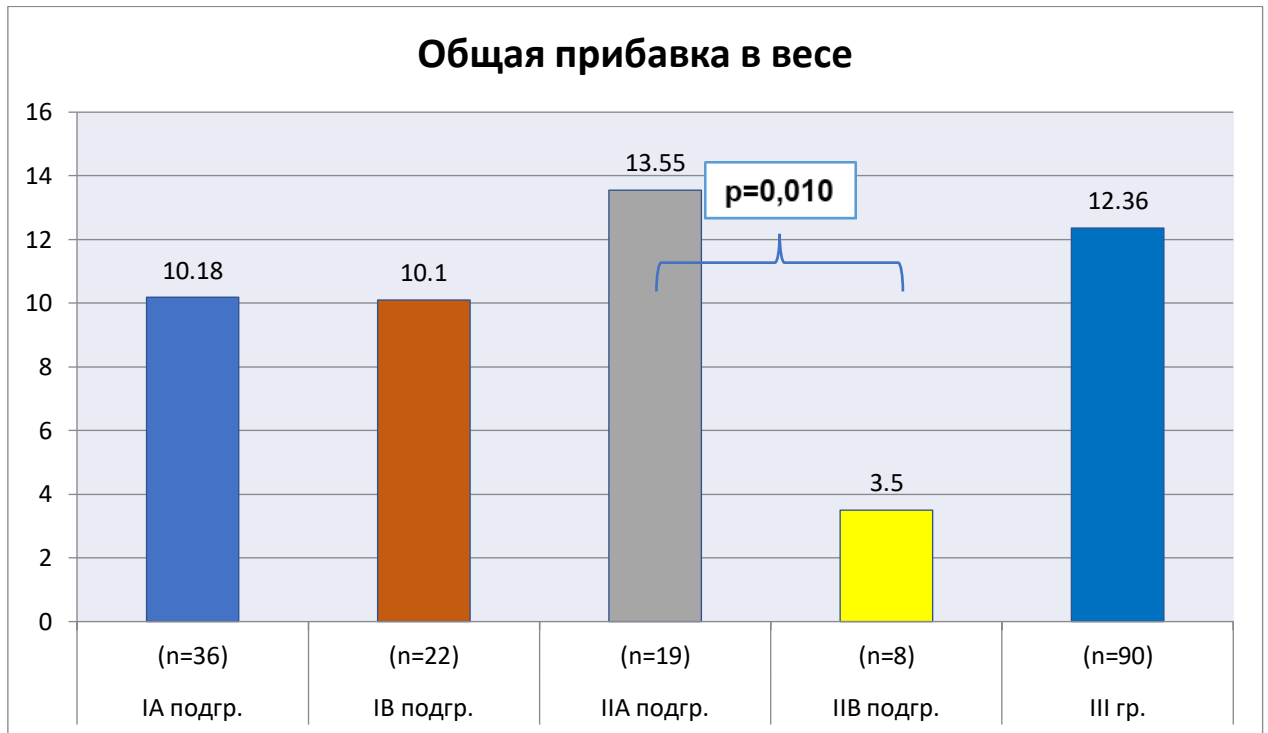


Рисунок 4. Общая прибавка в весе за беременность

Так, сравнительный анализ течения беременности у обследованных пациенток показал, что инфекционно-воспалительные заболевания вульвы и влагалища (а именно вульвовагинальный кандидоз) чаще осложняли течение беременности у женщин с ранним ГСД, начиная с I триместра беременности, и эта тенденция сохранялась на протяжении всего срока беременности. По частоте угрожающего самопроизвольного выкидыша отмечались статистически значимые различия во втором триместре. По частоте гормональной поддержки сравниваемые группы были сопоставимы. Гипертензивные расстройства во время беременности, многоводие чаще диагностировались у женщин группы раннего ГСД.

3.1.3. Исходы родов, течение послеродового и раннего неонатального периодов

В таблице 17 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%, $p = 0,031$) (рисунок 5). Родоразрешение путем операции кесарева сечения в экстренном порядке несколько чаще отмечалось среди пациенток IV подгруппы по сравнению с группой III (50% против 33,3%), однако достоверных различий получено не было ($p=0,202$).

Таблица 17

Исходы родов у обследованных женщин

Показатель	IA подгруппа n=36	IV подгруппа n=22	IIA подгруппа n=19	PIB подгруппа n=8	III группа n=90	p- value
	рГСД (диета)	рГСД (инс.)	пГСД (диета)	пГСД (инс.)	Норма	
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)	0,020
Поздние преждевременные роды**	1 (2,8)	6 (27,3)	1 (5,3)	1 (12,5)	7 (7,8)	
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:	<p>*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.</p> <p>Межгрупповой анализ: Средний срок родоразрешения: IV-III – $p=0,014$, PIB-III – $p=0,035$ Поздние преждевременные роды: IV-III – $p=0,020$</p>					

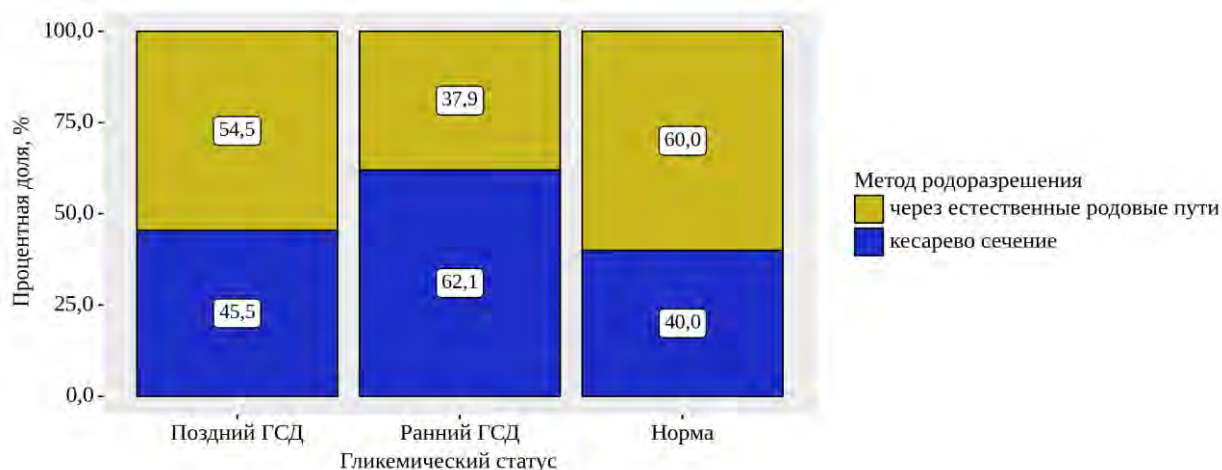


Рисунок 5. Метод родоразрешения в зависимости от гликемического статуса

Наиболее частыми показаниями к плановому оперативному родоразрешению у беременных с ГСД явились наличие крупного плода и старший репродуктивный возраст в дополнении сочетанной патологией.

Таблица 18

Показания к плановому оперативному родоразрешению

Показатель	I группа n=58	II группа n=27	III группа n=90	p-value
	рГСД	пГСД	Норма	
Рубец на матке после операции КС + сочетанная патология	5 (13,9)	1 (10,0)	10 (27,8)	0,238
Наличие 2-х рубцов на матке после операции КС	4 (11,1)	0 (0,0)	3 (8,3)	0,538
Рубец на матке после миомэктомии	0 (0,0)	1 (10,0)	4 (11,1)	0,123
Тазовое предлежание	2 (5,6)	1 (10,0)	0 (0,0)	0,237
Предлежание плаценты	1 (2,8)	0 (0,0)	0 (0,0)	0,524
Крупный плод	6 (16,7)	1 (10,0)	0 (0,0)	0,032*
Экстрагенитальная патология	2 (5,6)	0 (0,0)	4 (11,1)	0,424
Старший репродуктивный возраст + сочетанная патология	8 (22,2)	3 (30,0)	3 (8,3)	0,150
Примечания:	Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Используемый метод: Хи-квадрат Пирсона. *Крупный плод: I-III – p=0,032			

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%, $p=0,032$). Данные представлены в таблице 18.

При анализе показаний к экстренному оперативному родоразрешению, преэклампсия составила в группе позднего ГСД – 20,0% ($p=0,018$), в то время как в группе сравнения данного осложнения не отмечалось (табл. 19). Клинически узкий таз также чаще отмечался в группе позднего ГСД по сравнению с группой сравнения (10,0% и 0% соответственно), но статически значимой разницы не было выявлено ($p=0,190$).

Таблица 19

Показания к экстренному оперативному родоразрешению

Показатель	I группа n=58	II группа n=27	III группа n=90	p-value
	рГСД	пГСД	Норма	
Острая гипоксия плода	4 (11,1)	0 (0,0)	2 (5,6)	0,424
Слабость родовой деятельности	1 (2,8)	0 (0,0)	2 (5,6)	0,661
Клинически узкий таз	0 (0,0)	1 (10,0)	1 (2,8)	0,190
Преэклампсия	1 (2,8)	2 (20,0)	0 (0,0)	0,018*
ПОНРП	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (5,6)	0,270
ПИОВ + неготовность родовых путей	2 (5,6)	0 (0,0)	4 (11,1)	0,424
Примечания:	Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Используемый метод: Хи-квадрат Пирсона. *Преэклампсия: II-III – $p=0,018$			

Особенности родоразрешения представлены в табл. 20. Так, частота преиндукции родов не имела статистически значимых различий в обследованных группах и подгруппах. Стоит отметить, что родовой травматизм также отмечался примерно с равной частотой и не имел достоверных различий. Что касается проведения эпизиотомии в родах, то эта

процедура несколько чаще выполнялась пациенткам группы позднего ГСД на диетотерапии, чем в группе сравнения (27,3% и 14,4%, соответственно). Были выявлены статистически значимые различия в длительности безводного периода в I группе по сравнению с III группой ($p=0,032$). Большой объем кровопотери в родах отмечался в группе раннего ГСД ($p=0,044$).

Таблица 20

Особенности течения родов

Показатель	I группа n=58	II группа n=27	III группа n=90	p-value
	рГСД	пГСД	Норма	
ПРПО**	16 (28,1)	4 (18,2)	10 (11,1)	0,032
Преиндукция родов**◇	7 (12,1)	0 (0,0)	12 (13,3)	0,198
Кровопотеря в родах, мл*	600 (312; 700)	350 (250; 600)	325 (250; 600)	0,044
Эпизиотомия**	6 (10,5)	6 (27,3)	13 (14,4)	0,169
Разрывы шейки матки**	5 (8,6)	0 (0,0)	9 (10,0)	0,308
Разрывы промежности**	8 (13,8)	6 (27,3)	20 (22,2)	0,301
Ручное обследование полости матки**	5 (8,8)	2 (9,1)	5 (5,6)	0,705
Примечания:	<p>*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. ◇Преиндукция родов в связи с неготовностью родовых путей: I-5(8,6%), III-8(8,9%), I-III – $p=0,231$; преиндукция родов в связи с ПРПО: I-2(3,5%), III-4(4,4%), I-III – $p=0,186$</p> <p>Межгрупповой анализ: Кровопотеря: I-III – $p=0,044$ ПРПО: I-III – $p=0,032$</p>			

Анализ неонатальных исходов у обследованных женщин (табл. 21), показал, что во всех трех группах преобладали доношенные новорожденные: в I группе – 51 (87,9%), во второй группе – 25 (92,6%), в III группе – 83 (92,2%) ребенка. Недоношенными родились 9 (10,6%) детей от матерей с

ГСД в сроке гестации 34-36,6 недель. Однако признаки морфофункциональной незрелости имелись у 11 (12,9%) новорожденных. Рождение плодов мужского пола чаще наблюдалось у пациенток с ГСД (IA подгруппа – 55,6%, IIА подгруппа – 57,9%) по сравнению женщинами с группы сравнения (45,6%).

Наибольшая масса детей при рождении наблюдалась в подгруппе с поздним ГСД на диетотерапии – 3555.0 (3354.0; 4028.0) г, в то время как в группе беременных с нормально протекающей беременностью – 3390.0 (3065.0; 3845.0) г. А наименьшая средняя масса детей при рождении наблюдалась в подгруппе беременных с поздним ГСД на инсулинотерапии – 2554.0 (2024.0; 2812.0) г, что имело статистически значимые различия по сравнению с III группой ($p=0,027$). Макросомия статистически значимо чаще наблюдалась в подгруппе IIА по сравнению с группой контроля ($p=0,013$). В группе раннего ГСД на инсулинотерапии двое детей родились маловесными (9,1%), но данные не имеют статистически значимых различий по сравнению с группой сравнения ($p=0,089$).

Рождение детей в состоянии легкой асфиксии (оценка по шкале Апгар 6-7 баллов) наиболее часто отмечалось в группе позднего ГСД (18,18%). В группе раннего ГСД эта цифра составила – 7 (12,06%) детей. В асфиксии средней степени тяжести (оценка по шкале Апгар на 1-й минуте 4-5 баллов) родился 1 (1,11%) ребенок из группы беременных с нормогликемией; 14 (15,55%) – в состоянии асфиксии легкой степени.

Анализ особенностей течения раннего неонатального периода новорожденных у обследованных беременных, представленный в таблице 22, 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). Частота рождения детей с диагнозом «крупновесный к сроку гестации» была выше в группе с поздним ГСД на диетотерапии и составила 38,7%, но статистически значимой разницы выявлено не было ($p=0,179$).

Неонатальные исходы

Показатель	IA подгруппа n=36	IB подгруппа n=22	IIA подгруппа n=19	IIB подгруппа n=8	III группа n=90	p-value
	pГСД (диета)	pГСД (инс.)	пГСД (диета)	пГСД (инс.)	Норма	
Мальчик*	20 (55,6)	10 (45,5)	11 (57,9)	3 (37,5)	41 (45,6)	0,726
Масса тела при рождении, г**	3251 (3068; 3612)	3496 (3130; 3845)	3555 (3354; 4028)	2554 (2024; 2812)	3390 (3065; 3845)	0,027
Перцентиль массы ребенка при рождении, %**	68,3 (54,5; 84,2)	84,8 (47,4; 97,1)	86,3 (72,5; 96,1)	20,0 (17,0; 21,8)	67,8 (49,1; 83,6)	0,002
Макросомия*	3 (8,3)	5 (22,7)	7 (36,8)	0 (0)	8 (8,9)	0,013
Маловесный ребенок при рождении*	0 (0)	2 (9,1)	0 (0)	0 (0)	1 (1,1)	0,089
Рост новорожденного, см**	52 (50; 53)	51 (50; 53)	52 (51; 54)	47 (43; 49)	52 (50;54)	0,167
Оценка по шкале Апгар, 1-я мин., балл**	8 (8; 8)	8 (8; 8)	8 (8; 8)	6 (6; 7)	8 (8; 8)	0,064
Оценка по шкале Апгар, 5-я мин., балл**	9 (9; 9)	9 (9; 9)	9 (9; 9)	7 (7; 8)	9 (9; 9)	0,129
Окружность головы, см**	35 (35; 36)	35 (34; 35)	35 (35; 36)	33 (32; 34)	35 (35; 36)	0,295
Окружность плеч, см**	38 (37; 39)	38 (36; 39)	37 (36; 39)	36 (32; 36)	38 (37; 39)	0,286
Окружность груди, см**	34 (33; 35)	34 (32; 35)	34 (33; 34)	32 (28; 32)	34 (33; 35)	0,118
Примечания:	<p>*Данные представлены как абсолютные значения и % соотношение; χ^2- тест. **Данные представлены в виде медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1 – Q3); U-критерий Манна-Уитни.</p> <p>Межгрупповой анализ: Макросомия: IIA-III – p=0,013</p>					

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 IIA,

18,2% - подгруппы IV, что было статистически значимым различием ($p=0,026$). В группе сравнения данная патология встречалась у 2,2% новорожденных.

При оценке развития у новорожденных инфекционных заболеваний (врожденная пневмония, инфекции мочевыводящих путей), неонатальной желтухи, гематологических заболеваний (врожденная анемия, преходящая неонатальная тромбоцитопения), кожно-геморрагического синдрома различий получено не было. Врожденные пороки сердца выявлены у 6 (16,7%) детей IA подгруппы (у 2 – дефект межжелудочковой перегородки, у 3 – дефект межпредсердной перегородки, и только у 1 ребенка имел место критический ВПС: стеноз клапана легочной артерии на грани атрезии) и получены статистически значимые различия по сравнению с группой сравнения ($p=0,005$). ВПР выявлен только у одного ребенка (мегауретер) подгруппы IA; у трех детей группы контроля (3,3%) были диагностированы киста яичника, пиелоктазия и гипоплазия легкого.

Выписка новорожденных происходила значительно позже в группе пациенток с ранним ГСД на 5 (4; 5) сутки соответственно, в сравнении с группой сравнения - 4 (3; 5) сутки ($p=0,007$).

Таблица 22

Неонатальная заболеваемость

Показатель	IA подгруппа n=36	IV подгруппа n=22	IIA подгруппа n=19	PIB подгруппа n=8	III группа n=90	p- value
	рГСД (диета)	рГСД (инс.)	пГСД (диета)	пГСД (инс.)	Норма	
Крупновесный к сроку гестации*	6 (16,7)	4 (18,2)	7 (38,9)	0 (0,0)	14 (15,6)	0,179
Кефалогематома*	2 (5,6)	1 (4,5)	1 (5,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	0,042
Перелом ключицы*	3 (8,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (1,1)	0,005
Врожденная пневмония*	1 (2,8)	1 (4,5)	1 (5,6)	1 (12,5)	5 (5,6)	0,270

РДС*	2 (5,6)	5 (22,7)	2 (11,1)	1 (12,5)	2 (2,2)	0,011
Гемолитическая болезнь новорожденных*	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	4 (4,4)	0,463
Недоношенность*	3 (8,3)	4 (18,2)	2 (11,1)	1 (12,5)	4 (4,4)	0,123
ВЖК*	3 (8,3)	4 (18,2)	4 (22,2)	0 (0,0)	2 (2,2)	0,012 0,026
Сердечно- сосудистая патология*	4 (11,1)	3 (13,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	6 (6,7)	0,467
Неонатальная желтуха*	0 (0,0)	1 (4,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	5 (5,6)	0,516
Гематологические нарушения*	4 (11,1)	4 (18,2)	1 (5,6)	0 (0,0)	11 (12,2)	0,606
Кожно- геморрагический синдром*	2 (5,6)	2 (9,1)	1 (5,6)	0 (0,0)	4 (4,4)	0,920
ВПС*	6 (16,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (2,2)	0,005
ВПР*	0 (0,0)	1 (4,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (3,3)	0,927
Выписка из стационара, дни**	5 (4; 5)	5 (4; 8)	5 (3; 6)	4 (4; 5)	4 (3; 5)	0,026
Примечания:	<p>*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.</p> <p>Межгрупповой анализ: РДС: IB-III – p=0,011 ВЖК: IA-III – p=0,012, IB-III – p=0,026 ВПС: IA-III – p=0,005 Выписка из стационара: IB-III – p=0,026</p>					

Анализ нарушений уровня глюкозы крови показал, что неонатальная гипогликемия выявлена всего в 1 случае у пациентки с ранним ГСД на диетотерапии ($\leq 2,2$ ммоль/л), что можно объяснить удовлетворительной компенсацией ГСД матери. Так, средние значения глюкозы крови новорожденных не превышали нормативных значений и составили через 2 часа: в IA подгруппе – 3,43 (1,92) ммоль/л, в IB – 3,68 (1,91) ммоль/л, во IIА – 4,01 (1,93) ммоль/л, во IIБ – 3,30 (1,91) ммоль/л (табл. 23).

Таблица 23

Показатели гликемии у новорожденных

Показатель	IA подгруппа n=36	IB подгруппа n=22	IIA подгруппа n=19	IIB подгруппа n=8	III группа n=90
	рГСД (диета)	рГСД (инс.)	пГСД (диета)	пГСД (инс.)	Норма
Глюкоза крови, ммоль/л*	3,43 (1,92)	3,68 (1,91)	4,01 (1,93)	3,30 (1,91)	-
Примечания:	*Данные представлены как среднее \pm стандартное отклонение; ANOVA				

Таблица 24

Показатели гликемии и продолжительность стационарного наблюдения у обследованных в послеродовом периоде

Показатель	I группа n=58	II группа n=27	III группа n=90	p-value
	рГСД	пГСД	Норма	
Глюкоза крови на 3 сутки после родов, ммоль/л*	4,60 (0,48)	4,34 (0,57)	4,34 (0,57)	0,136
Выписка, сутки**	5 (4; 5)	4 (3; 5)	4 (3; 5)	0,048 0,010
Примечания:	*Данные представлены как среднее \pm стандартное отклонение; ANOVA **Данные представлены в виде медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1 – Q3); используемый метод: Критерий Краскела– Уоллиса. Межгрупповой анализ: Выписка: I-III – p=0,010, II-III – p=0,048			

Анализируя течение послеродового периода, нами была оценена нормализация гликемии у женщин, перенесших гестационный сахарный диабет (табл. 24). Всем роженицам, перенесшим ГСД, рекомендовалось измерение уровня глюкозы венозной плазмы натощак в течение первых двух суток после родов с целью уточнения наличия возможного нарушения углеводного обмена. Среднее ее значение составило 4,60 (0,48) ммоль/л в группе раннего ГСД и 4,34 (0,57) ммоль/л в группе пациенток с поздним ГСД, что не превышало нормативных значений. Также нами было

проанализировано количество дней, проведенных в стационаре после родов. Следует отметить, что продолжительность госпитализации оказалась статистически значимо выше в основных группах I и II, чем в группе сравнения ($p=0,048$ и $p=0,010$).

3.2. Пероральный глюкозо-толерантный тест в 1 триместре беременности

При сборе анамнеза и медицинском консультировании беременных на первичном приеме обязательным является определение факторов риска развития ГСД. В мировой литературе различными национальными обществами описаны различные состояния как факторы риска развития ГСД. В нашем исследовании мы использовали рекомендации ВОЗ. 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% (рисунок 6).

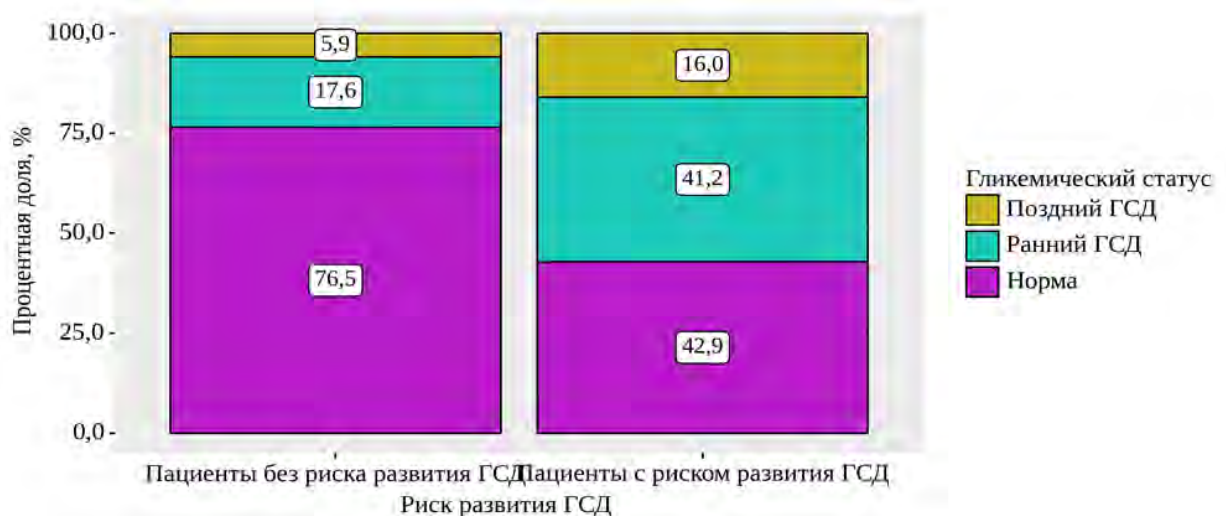


Рисунок 6. Развитие ГСД в зависимости от наличия факторов риска

Всем пациентам, включенным в исследование, был проведен пероральный глюкозо-толерантный тест с 75 г глюкозы в первом триместре беременности (11-14 недель, ПГТТ-1), результаты представлены в таблице 25. Диагноз ГСД устанавливался на основании критериев IADPSG. Ранний ГСД был диагностирован у 58 человек. Тридцать одна (53,4%) из этих женщин имели только один аномальный результат ПГТТ-1, и у 21 (36,2%) был диагностирован ранний ГСД только из-за глюкозы плазмы натощак выше 5,1 ммоль/л. Дальнейшее проведение нагрузочного теста показало, что у 8 из 58 (13,8%) беременных уровень глюкозы крови во второй точке (через 1 час) превышал нормативные значения, и трем из них далее потребовалась инсулинотерапия. У 11 из 58 (18,9%) беременных уровень глюкозы крови в третьей точке (через 2 часа) превышал нормативное значение, двум из которых в дальнейшем была назначена инсулинотерапия. Повышение уровня глюкозы крови во 2-ой и в 3-ей точках, наблюдалось у 18 женщин, и десяти пациенткам впоследствии потребовалось назначение инсулинотерапии. Женщинам с диагностированным ГСД на раннем сроке беременности было рекомендовано проводить самоконтроль гликемии с помощью портальных приборов (глюкометров) натощак 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. Из них у 14 (63,6%) было только одно аномальное значение в ПГТТ-2, а у 5 (22,7%) диагноз устанавливался только из-за глюкозы плазмы натощак выше 5,1 ммоль/л. 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 значимо различались между группами. Так у пациенток в IV подгруппе при ПГТТ-1 уровень гликемии имел более высокие цифры во всех трех точках ПГТТ, по сравнению с IA подгруппой, где значимо выше имел место только второй показатель уровня глюкозы крови, который составил 9,55 (8,32; 10,40) ммоль/л ($p=0,001$).

Инсулинотерапия назначалась врачами-эндокринологами, при этом срок беременности на момент начала лечения в среднем составил $21,00 \pm 8,02$ недель. Статистически значимо различался срок инициации инсулинотерапии в группах. Так, в группе раннего ГСД он был равен 18,0 (15,2; 23,5) недель, в группе позднего ГСД — 31,0 (31,0; 32,0) недель ($p=0,006$).

Таблица 25

Результаты перорального глюкозо-толерантного теста

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 натощак, 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 натощак, 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
Примечания:	* Данные представлены в виде медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1 – Q3); используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса. ** Данные представлены как среднее \pm стандартное отклонение; ANOVA					

Сравнение уровней глюкозы в плазме крови натощак, через 1 и 2 часа при ПГТТ на сроке беременности 11-14 недель (ПГТТ-1) и 24-28 недель беременности (ПГТТ-2)

	IA подгруппа n=36 pГСД диета		p- val ue	IIA подгруппа n=19 пГСД диета		p- value	IIB подгруппа n=8 пГСД инс.		p- val ue	III группа n=90 Норма		p- val ue
	ПГТ Т-1	ПГТ Т-2		ПГТ Т-1	ПГТ Т-2		ПГТ Т-1	ПГТ Т-2		ПГТ Т-1	ПГТ Т-2	
Глюкоза крови натощак, ммоль/л*	5,1 (4,7; 5,3)	5,0 (4,6; 5,2)	0,7 35	4,8 (4,7; 5,0)	5,1 (4,6; 5,3)	0,156	4,2 (4,2; 4,6)	4,1 (4,1; 4,2)	0,2 50	4,55 (4,4; 4,8)	4,50 (4,3; 4,7)	0,1 11
Глюкоза крови через 1 час, ммоль/л*	9,6 (8,3; 10,4)	9,3 (7,9; 10,6)	0,1 55	8,0 (7,6; 9,4)	8,5 (7,6; 10,0)	0,210	8,7 (8,1; 9,3)	10,0 (8,6; 10,2)	0,7 50	7,05 (6,2; 8,5)	7,3 (6,3; 8,1)	0,4 01
Глюкоза крови через 2 часа, ммоль/л*	8,2 (6,7; 9,3)	8,6 (7,4; 9,1)	0,2 45	7,5 (6,2; 8,4)	7,0 (6,5; 9,4)	< 0,001 **	8,4 (7,6; 8,4)	8,8 (8,0; 9,9)	0,2 50	6,15 (5,2; 7,1)	6,50 (5,6; 7,2)	0,0 69
*Данные представлены в виде медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1 – Q3); используемый метод: критерий Уилкоксона **Различия показателей статистически значимы (p < 0,05)												

Таблица 26 отображает изменения уровней глюкозы в плазме крови натощак, 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, IIB и III группы. ПГТТ-2 пациенткам с ранним ГСД на инсулинотерапии не проводилось. Значения уровня глюкозы раннего ПГТТ существенно не

отличались от значений стандартного ПГТТ. 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.

Применение пороговых значений ПГТТ, полученных на поздних сроках беременности, в ранние сроки беременности было связано с высокой распространенностью раннего ГСД, причем большинство диагнозов было основано на результатах глюкозы венозной плазмы натощак. Хотя эти критерии выявили значительное число женщин, которым потребовалось лечение инсулином на ранних сроках беременности, они не смогли выявить 8 женщин, которым потребовалось лечение инсулином после 24 недель беременности.

Целенаправленное раннее вмешательство, включающее физическую активность, диетотерапию и/или инсулинотерапию, начиная с первого триместра, может снизить частоту развития макросомии, оперативных родов и перинатальной заболеваемости. Однако, основное место имеет долгосрочное влияние на потомство, что приведет к значительной экономии затрат за счет возможного снижения распространенности передачи метаболических заболеваний из поколения в поколение. Мы предполагаем, что ранний ПГТТ (в 1 триместре) в сочетании с анамнезом, состоянием матери и перспективными новыми биомаркерами, о которых будет написано далее, может точно диагностировать ГСД даже в первом триместре.

3.3. Ультразвуковые маркеры прогнозирования гестационного сахарного диабета

3.3.1. Ультразвуковые предикторы гестационного сахарного диабета при проведении пренатального скрининга II триместра

Наиболее значимыми параметрами в антропометрии плода являются окружность головы (ОГ), окружность живота (ОЖ), бипариетальный размер

(БПР) и длина бедра (ДлБ). Эти биометрические параметры плода могут быть использованы для получения предполагаемой массы плода (ПМП). Они актуальны, поскольку определяют скорость роста плода и его конкретных органов в зависимости от внутренней среды, начиная с 13-14 недель беременности. Большинство акушеров полагаются на эти параметры, чтобы получить оценку состояния плода. Достижение точной оценки внутриутробных антропометрических параметров плода важно для раннего выявления и клинического лечения метаболических нарушений, которые могут возникнуть во время беременности. Поэтому следующим этапом нашей работы была оценка возможности связи ультразвуковых размеров плода во втором триместре с развитием гестационного сахарного диабета. Ультразвуковые размеры плода в 18-20 недель беременности представлены в таблице 27. Обращает на себя внимание тот факт, что уже с 18-20 недель беременности пациентки I группы имели более высокую предполагаемую массу плода (318,50 (283,50; 373,25) г), чем во II и III группах, но эта разница была статистически не значимой ($p=0,153$). 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). Коэффициент асимметричности ОГ/ОЖ не имел статистически значимых различий между группами ($p=0,165$). 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 ($p=0,007$). Также группа пациентов с поздним ГСД имела статистически значимое более низкое среднее значение БПР/ДлБ, чем группа контроля ($p=0,045$). Тем временем разницы в толщине плаценты, межполушарном размере мозжечка,

поперечном размера живота, лобно-затылочном, бипариетальном размерах между группами получено не было.

Таблица 27

Ультразвуковые размеры плода во II триместре

Показатель	I группа n=58	II группа n=27	III группа n=90	p-value
	рГСД	пГСД	Норма	
Срок, недель**	19,30 (19,00; 20,10)	19,20 (19,00; 19,60)	19,30 (18,60; 19,60)	0,274
Окружность головой, мм*	166,73 (11,36)	164,90 (8,49)	163,89 (11,40)	0,315
Окружность живота, мм**	150,00 (138,90; 158,82)	142,95 (136,30; 153,20)	144,0 (137,40; 152,62)	0,047
ОГ/ОЖ*	1,12 (0,07)	1,15 (0,06)	1,14 (0,06)	0,165
Поперечный размер живота, мм**	47,30 (46,00; 49,75)	49,00 (46,00; 49,65)	45,85 (45,00; 49,00)	0,273
Бипариетальный размер, мм**	45,10 (43,32; 4,22)	44,55 (44,00; 47,00)	45,95 (43,00; 47,65)	0,972
Лобно- затылочный размер, мм*	59,86 (4,26)	59,12 (2,97)	58,42 (4,33)	0,119
Длина бедра, мм*	31,59 (2,89)	30,31 (2,23)	30,44 (2,71)	0,030
БПР/ДлБ*	1,45 (0,09)	1,51 (0,07)	1,50 (0,10)	0,007 0,045
Предполагаемая масса плода (ПМП), г**	318,50 (283,50; 373,25)	306,50 (266,75; 329,00)	306,00 (274,75; 344,00)	0,153
Межполушарный размер мозжечка, мм**	19,95 (19,00; 20,98)	19,00 (19,00; 20,00)	19,20 (18,73; 20,00)	0,103
Толщина плаценты, мм**	21,50 (20,00; 23,00)	21,00 (20,00; 23,00)	21,00 (19,00; 22,00)	0,337
Примечания:	<p>*Данные представлены как среднее \pm стандартное отклонение; ANOVA</p> <p>** Данные представлены в виде медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1 – Q3); используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса.</p> <p>Межгрупповой анализ: Длина бедра: I-III – p=0,030 БПР/ДлБ: I-III – p=0,007, I-II – p=0,045</p>			

Наше исследование показывает, что чрезмерный рост плода может наблюдаться уже на 18-20 неделе беременности. Поскольку расхождения в параметрах роста плода начинаются уже на 18 неделе беременности, обращение внимания на небольшие отклонения и тщательный мониторинг роста плода могут внести значительный вклад в предотвращение болезненных перинатальных исходов и могут обеспечить достаточные возможности для ранних вмешательств, обеспечивая оптимизацию здоровья матери и плода.

3.3.2. Динамика роста плодов по данным УЗ-фетометрии

Размер плода при проведении ультразвукового исследования является важным показателем при ведении ГСД. Одна из трудностей традиционной терапии заключается в том, что разница между увеличением риска развития маловесных плодов при низких целевых показателях глюкозы и увеличением риска макросомии при более высоких целевых показателях небольшая. Тем не менее, необходимо избегать увеличения риска маловесных плодов, так как это создает равный или больший риск, чем макросомия для метаболических заболеваний в дальнейшей жизни. В исследованиях было показано, что слишком агрессивный контроль уровня глюкозы является возможной причиной для развития маловесных плодов. Следовательно, преимущества строгого контроля уровня глюкозы должны быть сбалансированы с рисками.

Проведена динамическая УЗ-фетометрия с 18-20 недель беременности у обследованных женщин (табл. 28). Предполагаемая масса у плодов с ГСД была выше, чем у плодов группы сравнения, однако с момента назначения инсулинотерапии отмечалось снижение темпов роста плодов. Эта тенденция отмечается и в группе раннего ГСД, и позднего. 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. 7,8).

Медиана предполагаемой массы плода (г)

Срок, недель	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.)	Норма	
18-20	328,0 (295,5; 363,2)	299,0 (271,2; 378,5)	282,0 (265,5; 319,5)	331,0 (323,5; 357,0)	306,0 (274,7; 344,0)	0,131
26-28	940,0 (797,0; 1051,5)	911,5 (830,5; 1176,8)	861,0 (777,5; 1012,0)	910,0 (900,0; 920,0)	873,5 (715,5; 1070,5)	0,607
30-31	1652,0 (1504,8; 1782,5)	1730,0 (1599,0; 1852,0)	1797,0 (1601,5; 1908,0)	1299,0 (1294,5; 1303,5)	1612,0 (1516,5; 1774,0)	0,045
32-33	2255,0 (2183,5; 2370,0)	1954,0 (1911,0; 2060,0)	2215,0 (2149,2; 2235,0)	1663,0 (1526,0; 1801,0)	2105,5 (1928,5; 2309,2)	0,042
34-35	2556,0 (2370,0; 2786,0)	2212,0 (2047,0; 2355,0)	2565,0 (2462,5; 2567,5)	2261,0 (2060,0; 2423,0)	2474,0 (2408,0; 2685,0)	0,605
36-37	2943,0 (2692,5; 3103,0)	2340,0 (2140,2; 2697,5)	3317,5 (2881,2; 3564,0)	2430,0 (2130,0; 2690,0)	2995,0 (2782,0; 3128,0)	0,049
38-39	3508,0 (3413,0; 4205,0)	3164,5 (2820,0; 3261,5)	3675,5 (3595,5 – 3833,5)	3154,0 (2840,0; 3440,0)	3399,5 (3162,2; 3552,2)	0,325
Примечания:	*Данные представлены в виде медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1 – Q3); U-критерий Манна-Уитни.					

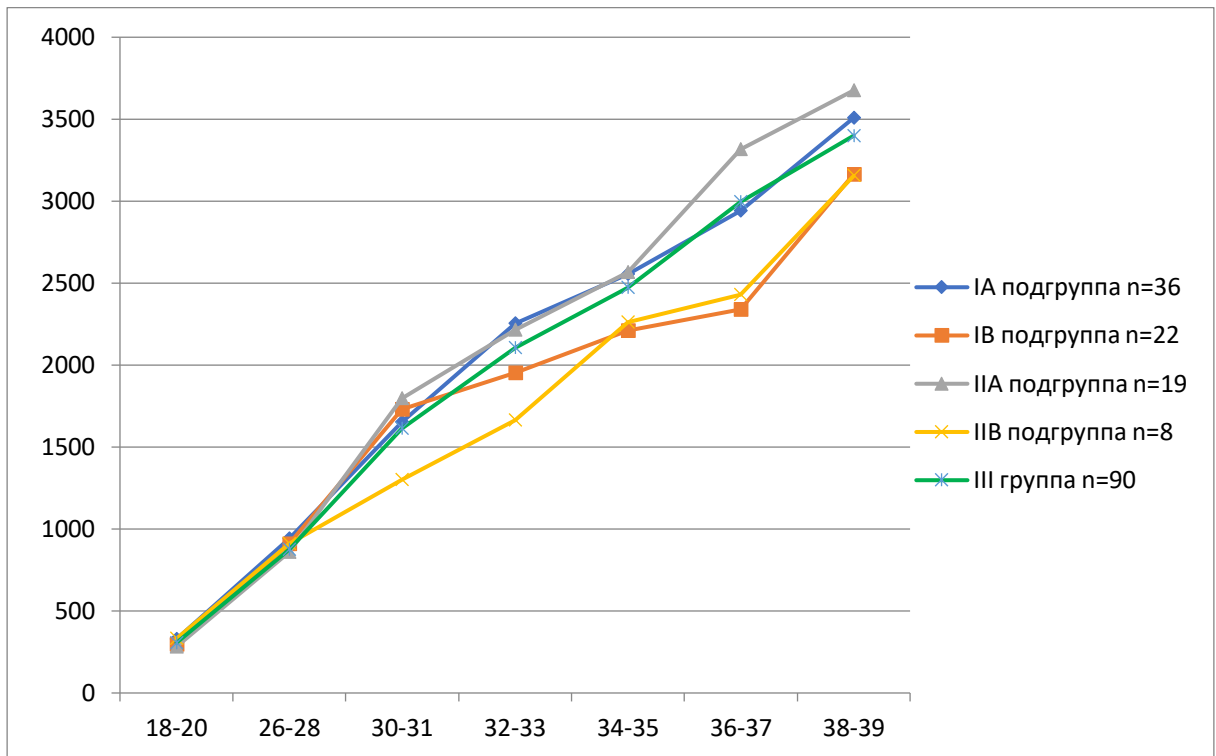


Рисунок 7. Динамика предполагаемой массы тела плодов в граммах

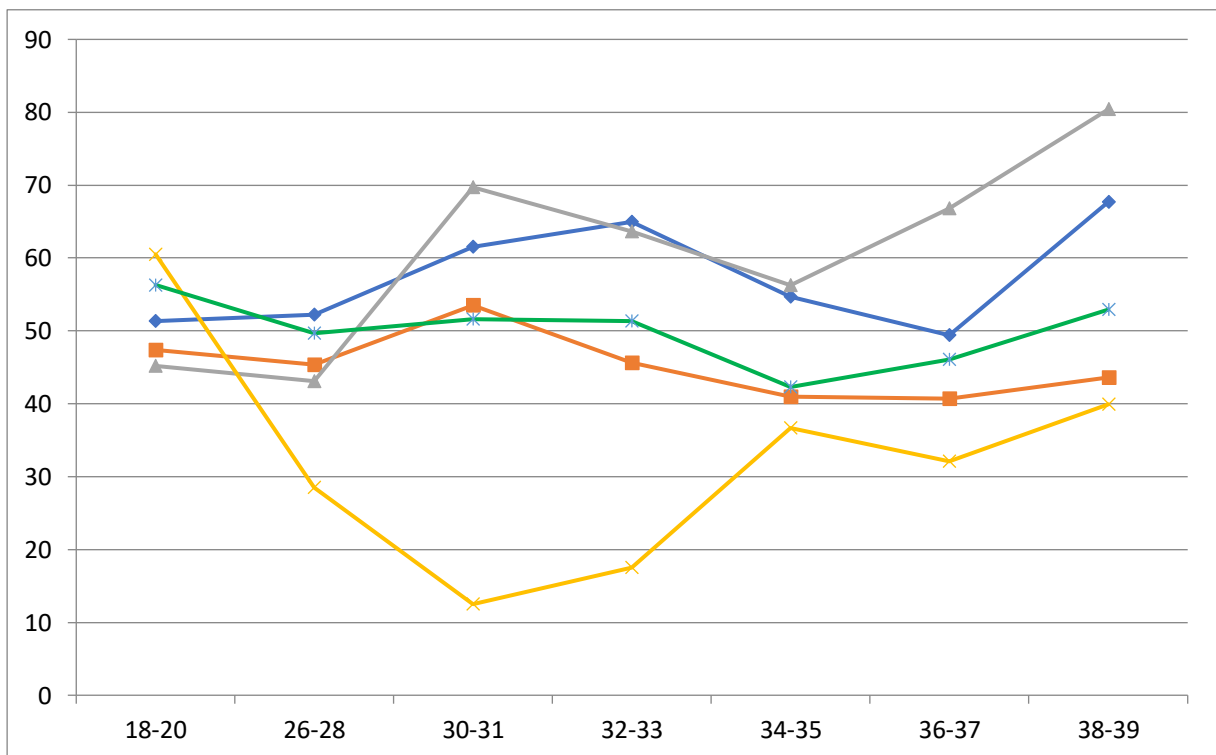


Рисунок 8. Динамика предполагаемой массы тела плодов в процентилях

Весь медицинский мир движется по пути стандартизации и принятия единых протоколов. Учитывая отсутствие в настоящих руководящих документах рекомендаций для клиницистов, касающихся надлежащих стратегий ведения пациентов с ГСД для предотвращения случаев развития

маловесных плодов, это должно быть предметом будущих исследований для разработки будущих клинических рекомендаций.

3.4. Роль внеклеточных везикул плазмы как ранних предикторов ГСД

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, подписавших добровольное информированное согласие на забор венозной крови. По результатам перорального глюкозо-толерантного теста 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.

Как указывалось выше, пациентки были разделены на 2 группы (с ГСД и с нормальной толерантностью к глюкозе). Статистически значимых различий по возрасту, сроку беременности на момент включения в исследование, массо-ростовым показателям и индексу массы тела выявлено не было. Все женщины были некурящими, имели одноплодную беременность и не имели инфекционно-воспалительных и других акушерских осложнений, кроме ГСД (I группа). Клиническая характеристика пациенток представлена в таблице 29.

Клинико-анамнестическая характеристика групп

Параметр	N	I группа ГСД N = 20 ¹	II группа сравнения N = 25 ¹	p-value ²
Возраст, лет	45	34.0 (30.0, 39.0)	29.0 (27.5, 32.5)	0.084
Рост, см	45	164 (160, 168)	165 (164, 171)	0.7
Масса тела, кг	45	66 (58, 82)	64 (56, 74)	0.6
ИМТ, кг/м ²	45	23.8 (21.4, 28.2)	22.3 (20.6, 26.6)	0.4
Срок беременности при включении в исследование, недель	45	13.60 (12.00, 14.10)	13.60 (12.35, 15.15)	0.5
ПГТТ (глюкоза крови натощак), ммоль/л	45	5.30 (4.85, 5.50)	4.70 (4.50, 4.80)	0.004
ПГТТ (глюкоза крови через 1 час), ммоль/л	45	10.20 (9.70, 10.65)	6.90 (6.15, 7.80)	<0.001
ПГТТ (глюкоза крови через 2 часа), ммоль/л	45	9.00 (7.80, 9.65)	6.50 (4.80, 6.75)	<0.001
¹ Median (IQR)				
² Wilcoxon rank sum exact test				

Чтобы оценить, были ли различия ВВ, полученных из материнской плазмы в первом триместре беременности, между исследуемыми группами (ГСД и группа сравнения), было проанализировано распределение ВВ по размерам, полученным с помощью центрифугирования. Анализ НТА 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. 30, рисунок 9,10).

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

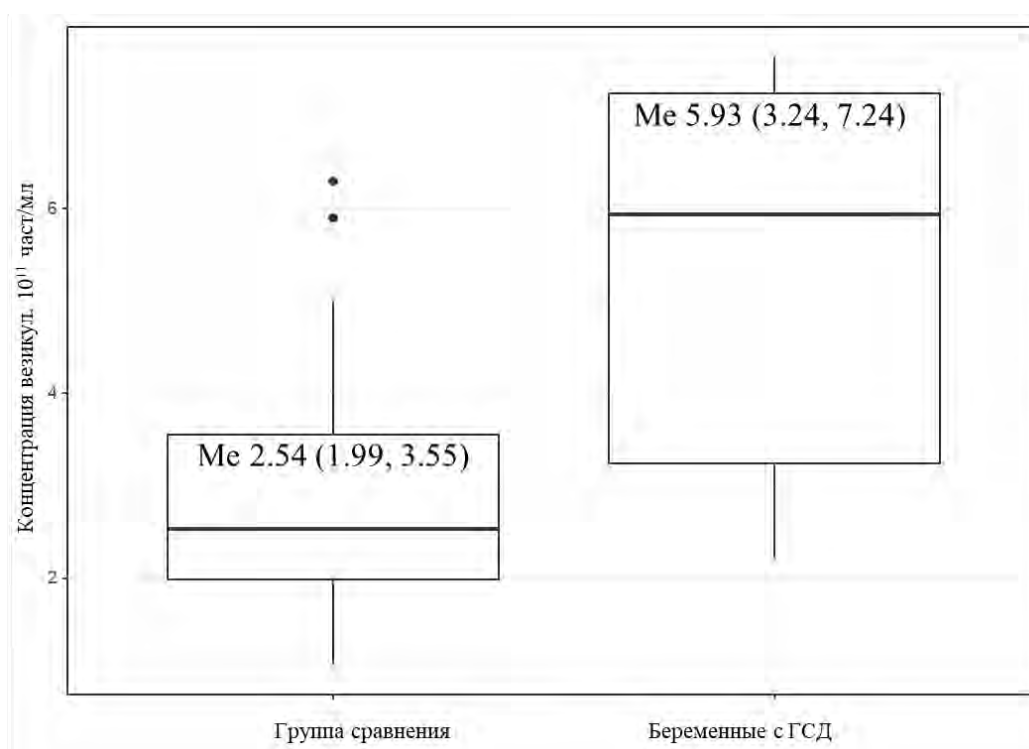


Рисунок 9. Анализ концентрации везикул в зависимости от гликемического статуса

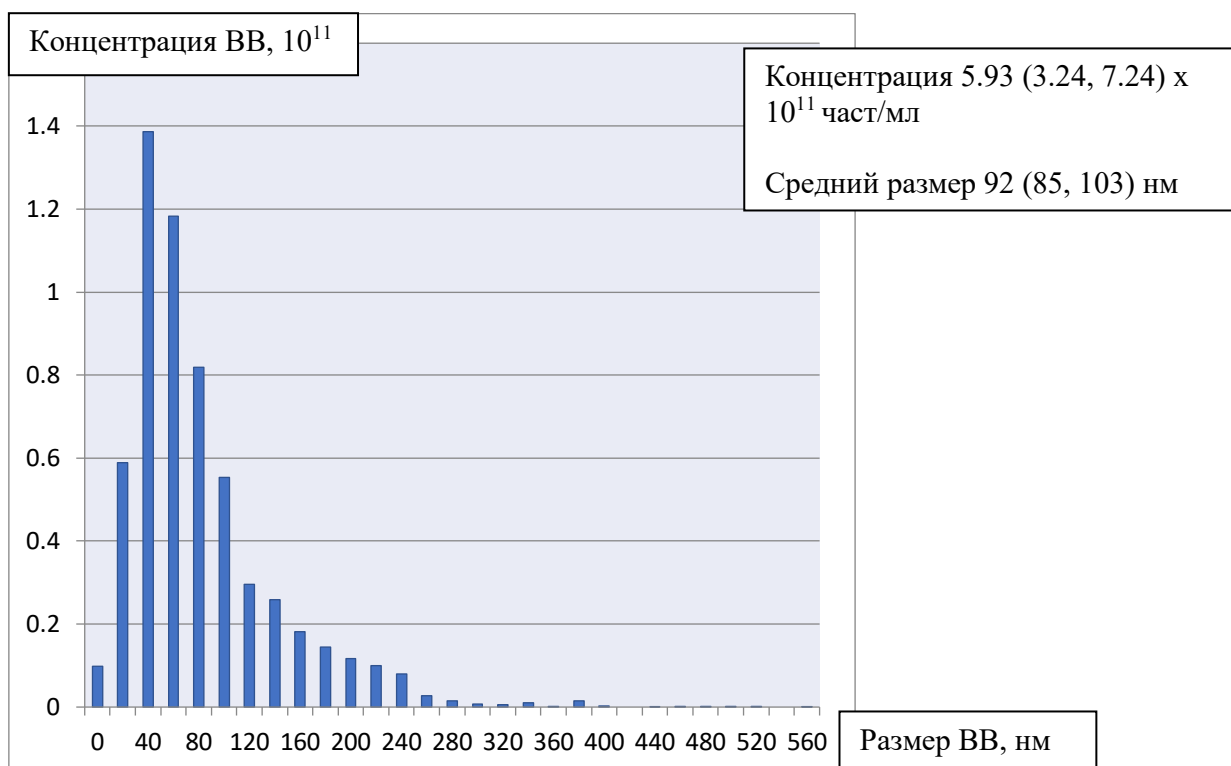


Рисунок 10. Оценка размеров и количества ВВ, полученных от беременных с ГСД

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 (рисунок 11). Площадь под ROC-кривой составила $0,813 \pm 0,080$ с 95% ДИ: $0,657 - 0,970$. Полученная модель была статистически значимой ($p=0,003$). Пороговое значение концентрации везикул в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило $3,224 \times 10^{11}$ част/мл. Развитие ГСД прогнозировалось при значении концентрации везикул выше данной величины или равном ей. Чувствительность и специфичность модели составили 80,0 и 66,7%, соответственно.

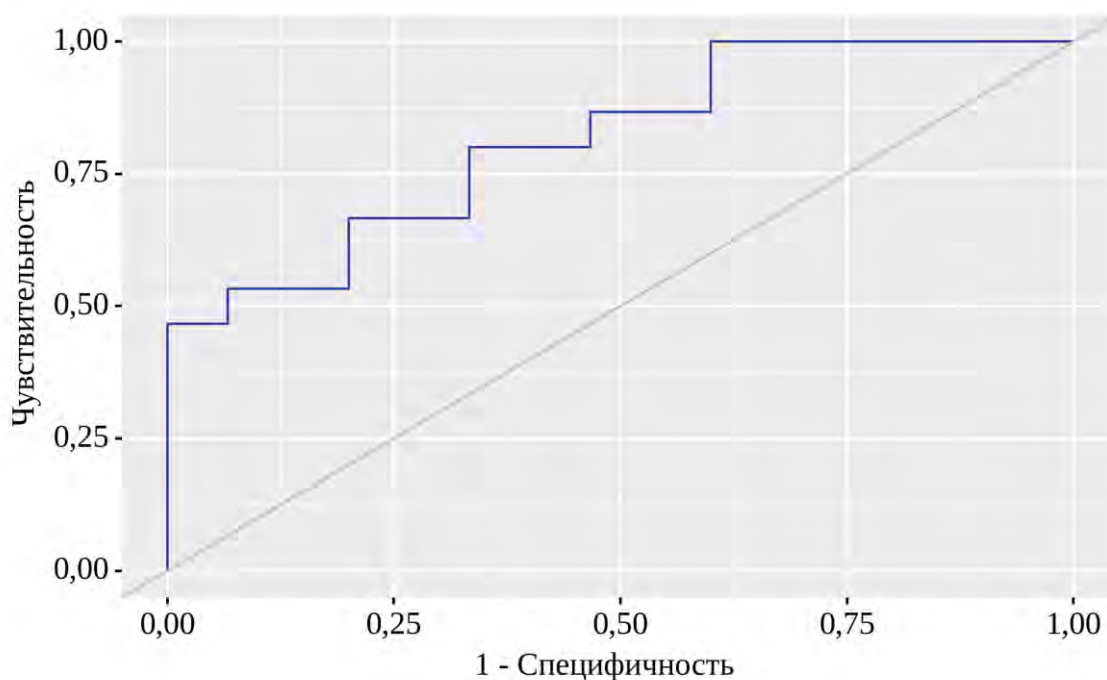


Рисунок 11. ROC-кривая прогнозирования гестационного сахарного диабета в зависимости от количества внеклеточных везикул плазмы

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, поскольку ВВ – важный компонент секрета различных клеток, обеспечивающий комплексную передачу биологически активных молекул и горизонтальный перенос генетической информации. В связи с этим весьма перспективным представляется исследование содержимого ВВ, в частности, анализ профиля микроРНК (глава 3.5.).

3.5. МикроРНК-сигнатура в ранней диагностике ГСД

Целью настоящего исследования было проанализировать уровень экспрессии мкРНК в плазме периферической крови женщин с

нормогликемией и с ГСД на 11-14 неделе гестации с целью идентификации молекул, обладающих диагностической значимостью в выявлении ГСД на ранних сроках беременности для своевременной профилактики развития осложнений у матери и плода. Общая численность выборки пациенток, включенных в настоящее исследование, составила 48 человек: 34 женщины с физиологическим течением беременности и 14 женщин 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 периферической крови пациенток, выбранных случайным образом из всей собранной коллекции, включающих по 12 образцов из каждой группы. По нормированным в программе DeSeq2 данным чисел прочтения мкРНК в каждом образце была построена модель дискриминантного анализа с частичной регрессией наименьших квадратов (PLS-DA), представленная на рисунке 11. Вклад мкРНК в распределение образцов на графике разработанной модели PLS-DA оценивали по значениям Variable Importance in Projection (VIP) для контрольной группы и группы с ГСД. Значения VIP представлены в виде вставки в правой части графика. На рисунке 12 можно видеть два четко сформированных кластера: первый кластер (выделен красным цветом) представлен образцами контрольной группы и второй кластер (выделен

черным цветом) представлен образцами группы пациенток с ГСД.

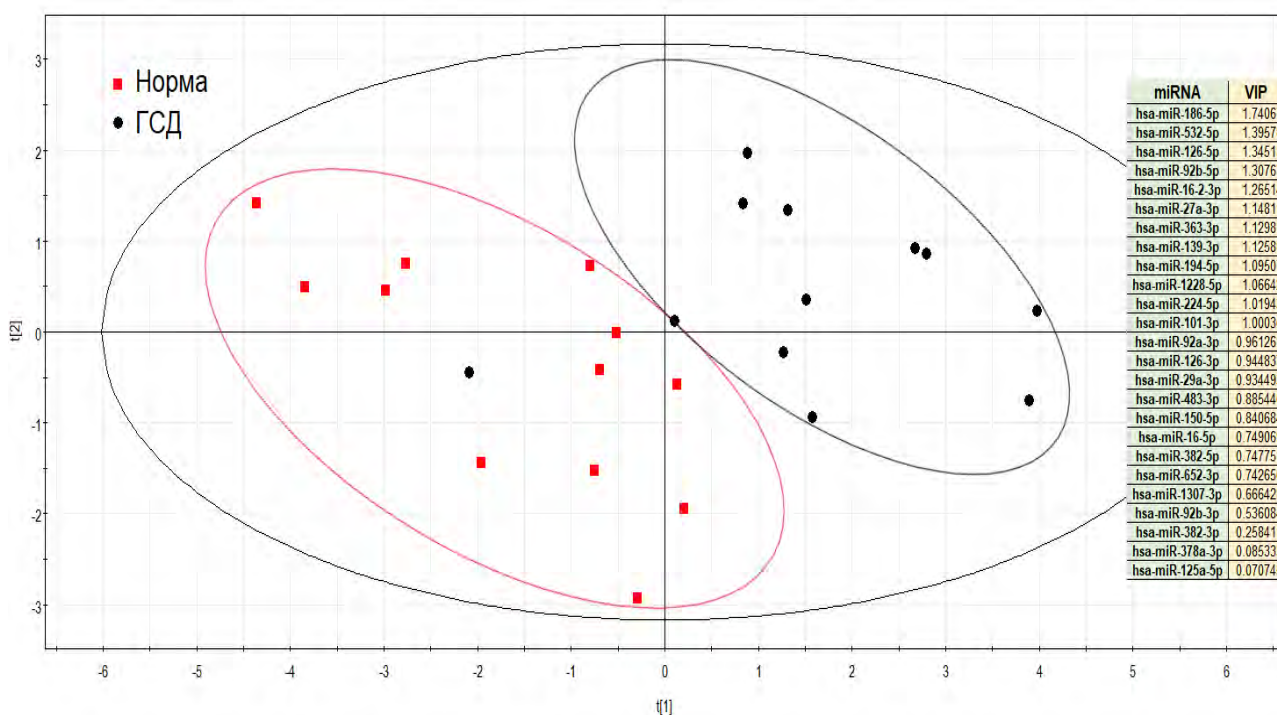


Рисунок 12. Распределение образцов периферической крови пациенток по уровню экспрессии мкРНК при построении модели PLS-DA

Молекулы мкРНК со значениями $VIP > 0,5$ были взяты для валидации уровня их экспрессии методом ОТ-ПЦР в реальном времени и последующей оценки их диагностической значимости в выявлении ГСД в первом триместре беременности с использованием всей собранной коллекции образцов.

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 ($p < 0,05$) уровня экспрессии 43 мкРНК с показателями, как минимум, одной из временных точек проведения перорального глюкозо-толерантного теста и уровня глюкозы натощак при первом обращении. Результаты корреляционного анализа представлены в таблице 31.

**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-1323	0.0565	-0.39	0.5195	-0.14	0.2895	-0.23	0.1046	-0.34
hsa-miR-629-5p	0.0774	-0.37	0.0357	-0.43	0.0589	-0.39	0.1063	-0.34
hsa-miR-433-3p	0.0096	0.52	0.2069	0.27	0.0411	0.42	0.1114	0.33
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

Кроме того, были сопоставлены две группы пациенток с наличием и отсутствием ГСД по числам прочтения всех идентифицированных мкРНК методом глубокого секвенирования и выявлены статистически значимые отличия ($p < 0,05$) для 15 молекул с использованием критерия Уилкоксона-

Манна-Уитни (табл. 32). Данные мкРНК были выбраны для дальнейшего анализа методом количественной ПЦР в реальном времени.

Таблица 32

Сопоставление групп беременных с наличием и отсутствием ГСД по данным глубокого секвенирования мкРНК.

мкРНК	Медиана чисел прочтения во всех образцах	Log2 (кратность изменения уровня экспрессии в группе «ГСД» относительно группы «Контроль»)	Статистическая значимость отличий, критерий Уилкоксона-Манна-Уитни
hsa-miR-92b-5p	24.63272	0.922136	0.007829
hsa-miR-126-5p	13.55731	-0.84908	0.007879
hsa-miR-139-5p	18.38184	-0.93891	0.018049
hsa-miR-186-5p	117.2765	0.47255	0.022079
hsa-miR-342-3p	7.310057	-1.07463	0.023991
hsa-miR-532-5p	296.0248	0.425196	0.024497
hsa-miR-483-3p	21.34844	-1.17279	0.027286
hsa-miR-1294	5.502069	0.853359	0.029781
hsa-miR-194-5p	72.57318	-0.51235	0.030442
hsa-miR-3615	476.6703	0.452995	0.034033
hsa-miR-15b-5p	13.92858	0.897561	0.041233
hsa-miR-30d-5p	6788.467	1.192751	0.042837
hsa-miR-224-5p	58.98004	-1.29423	0.045203
hsa-miR-363-3p	123.2248	0.411997	0.049864
hsa-miR-16-2-3p	361.4329	0.333664	0.051507
hsa-miR-7-5p	316.0779	0.544771	0.056745
hsa-miR-4508	11.17963	0.853683	0.061446
hsa-miR-215-5p	22.1242	-1.2123	0.066779
hsa-miR-30a-5p	192.7182	0.918387	0.070196
hsa-miR-2110	35.32824	0.495261	0.087356

hsa-miR-139-3p	19.72808	-0.60173	0.0959
hsa-miR-101-3p	1535.694	0.449438	0.095975
hsa-miR-200a-3p	55.75409	1.525093	0.106637
hsa-miR-200c-3p	57.70679	1.87426	0.10865
hsa-miR-320a	1278.623	0.206713	0.113147
hsa-miR-146b-5p	93.3443	-0.50103	0.117462
hsa-miR-1228-5p	19.7549	-0.59924	0.117761
hsa-miR-126-3p	452.5025	-0.31019	0.117901
hsa-miR-150-5p	20.8839	-0.60333	0.126053
hsa-miR-29a-3p	20.931	-0.52843	0.13462

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 беременности, выбранных на предыдущем этапе анализа данных глубокого секвенирования мкРНК методами построения модели PLS-DA, корреляционного анализа по Спирмену и использования критерия Уилкоксона-Манна-Уитни. Сравнение уровня экспрессии мкРНК в образцах двух групп пациенток относительно эндогенной референсной мкРНК hsa-miR-1037-3p выполняли методом Δ СТ (смотри раздел «Материалы и методы»). На основании полученных значений (Δ Ст) для каждой мкРНК были разработаны различные варианты моделей логистической регрессии для расчета вероятности наличия у пациентки ГСД на 11-14 неделе беременности (рисунок 13).

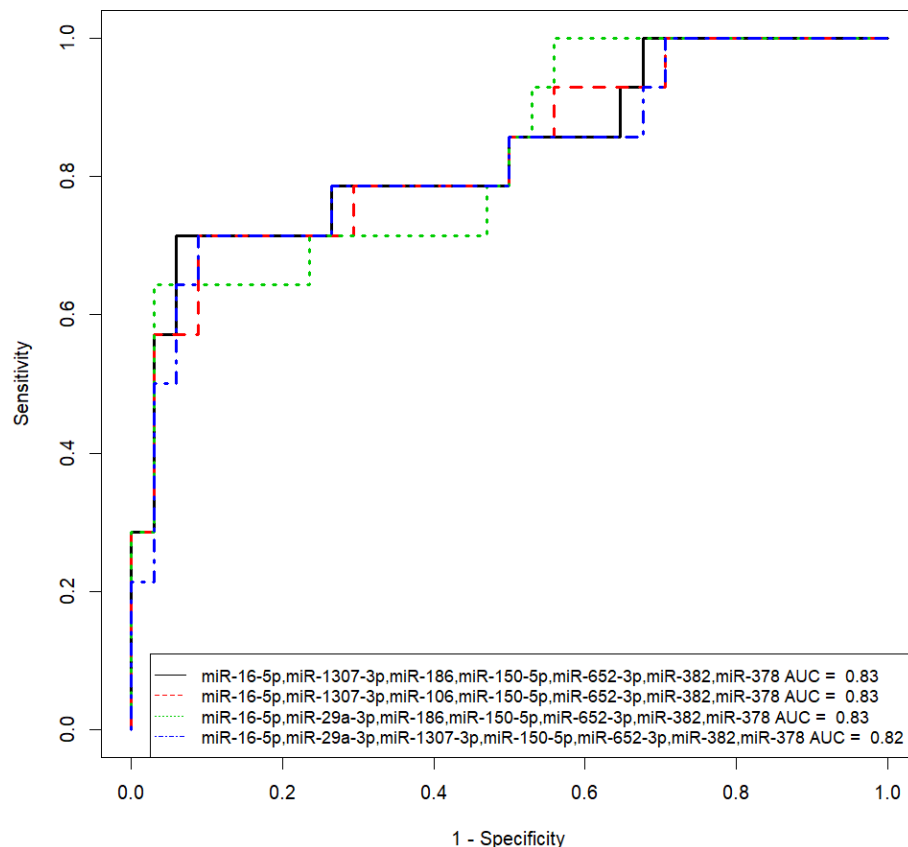


Рисунок 13. Модель логистической регрессии для расчета вероятности наличия ГСД у беременной на 11-14 неделе гестации по профилю экспрессии мкРНК в плазме периферической крови

Параметры построенных моделей по уровню экспрессии мкРНК в плазме крови беременных представлены в таблице 34. Точность прогнозирования ГСД у беременных (88%) выше, а доля ложноотрицательных результатов (29%) ниже в случае использования комбинации miR-16-5p, miR-1307-3p, miR-186, miR-150-5p, miR-652-3p, miR-382-5p, miR-378-3p в сравнении с данными параметрами моделей, построенных по уровню глюкозы натощак (точность 84%, доля ложноотрицательных результатов 32%) или при проведении перорального глюкозотолерантного теста через час после приема 75 г глюкозы (ПГТТ2: точность 79%, доля ложноотрицательных результатов 45%) и через два часа после приема 75 г глюкозы (ПГТТ3: точность 79%, доля ложноотрицательных результатов 55%) как указано в таблице 33.

Разработанные модели прогнозирования ГСД у беременных по данным ПГТТ (выполненного в 11-14 недель) представлены на рисунке 14.

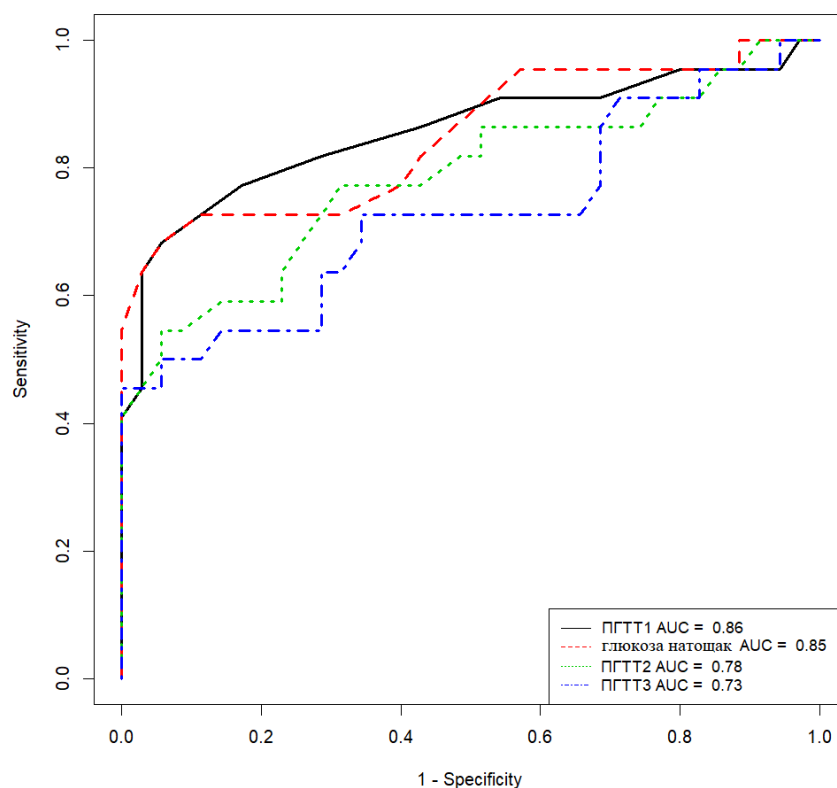


Рисунок 14. Модели логистической регрессии для расчета вероятности наличия ГСД у беременной на 11-14 неделе беременности по уровню глюкозы в плазме периферической крови

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%. На рисунке 15 представлены данные модели.

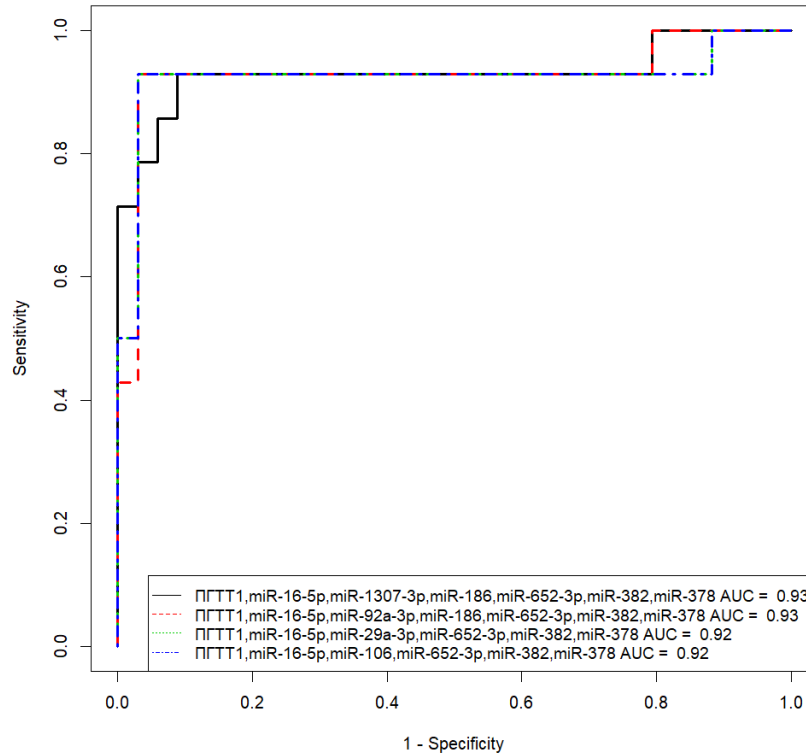


Рисунок 15. Модели логистической регрессии для расчета вероятности наличия ГСД у беременной на 11-14 неделе гестации по сочетанному определению уровня глюкозы и мкРНК в плазме периферической крови

Ниже приведена формула (1) наиболее оптимальной модели при сочетанном измерении уровня глюкозы натощак и уровня экспрессии мкРНК в плазме периферической крови, где X_1 – ПГТТ1, X_{2-7} -значения ΔCt для соответствующей мкРНК miR-16-5p, miR-92a-3p, miR-186, miR-652-3p, miR-382-5p, miR-378-3p по результатам количественной ОТ-ПЦР в реальном времени:

$$\frac{1}{1 + e^{21.54 - 5.18x_1 + 0.59x_2 + 2.7x_3 - 0.1x_4 + 0.23x_5 - 2.44x_6 + 0.58x_7}} \quad (1)$$

При значении вероятности прогнозирования ГСД выше 0,4 у беременной с 96% точностью диагностируют ГСД.

При построении моделей логистической регрессии для расчета вероятности наличия ГСД у беременной на 11-14 неделе гестации при сочетанном определении глюкозы натощак при первом обращении (ГНПО) и

различных временных точках определения уровня глюкозы в рамках проведения перорального глюкозо-толерантного теста идентифицирована комбинация ГНПО, ПГТТ1, ПГТТ2, ПГТТ3, которая с 90% точностью выявляет истинно ГСД в 86% случаях (TPR) с долей ложноотрицательных результатов в 14% случаях, что уступает параметрам модели с участием ПГТТ1 и мкРНК miR-16-5p, miR-92a-3p, miR-186, miR-652-3p, miR-382-5p, miR-378-3p (формула 1). На рисунке 16 и в таблице 34 представлены данные модели.

Ниже приведена формула (2) модели при использовании значений уровня глюкозы в различные временные точки (X_n), а именно: ГНПО, ПГТТ1, ПГТТ2, ПГТТ3.

$$\frac{1}{1 + e^{39.98 - 3.67x_1 - 3.29x_2 - 0.24x_3 - 0.64x_4}} \quad (2)$$

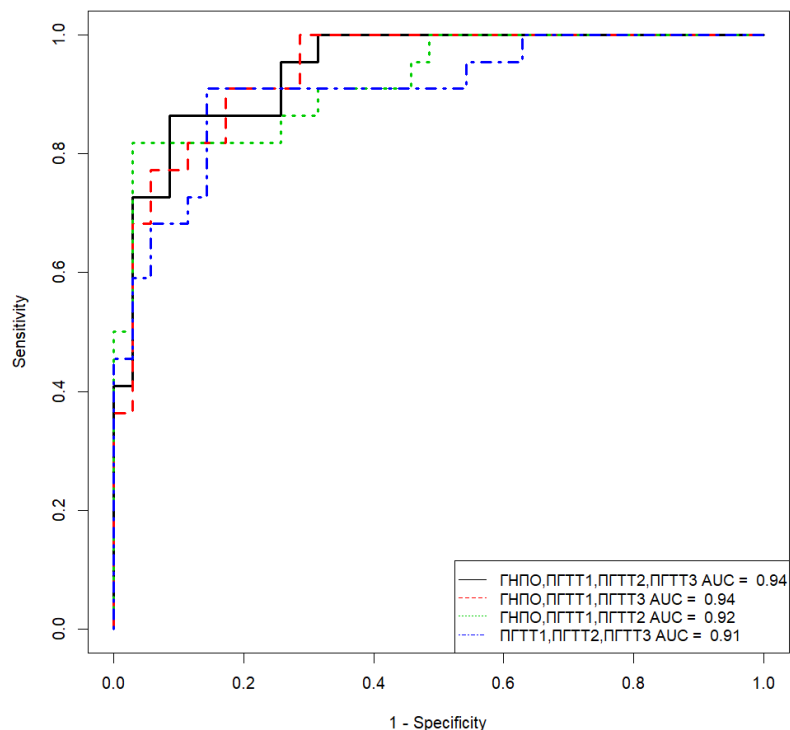


Рисунок 16. Модели логистической регрессии для расчета вероятности наличия ГСД у беременной на 11-14 неделе гестации по сочетанному определению уровня глюкозы в плазме периферической крови в различные временные точки

Параметры моделей логистической регрессии прогнозирования ГСД на 11-14 неделе беременности по уровню глюкозы и мкРНК в плазме периферической крови беременных

Модель	Cutoff	AUC	P-value	ACC	SEN	SPE	TPR	FPR	TNR	FNR
miR-16-5p,miR-1307-3p,miR-186,miR-150-5p,miR-652-3p,miR-382-5p,miR-378-3p	0,45	0,83	<0,001	0,88	0,71	0,94	0,71	0,06	0,94	0,29
miR-16-5p,miR-1307-3p,miR-106,miR-150-5p,miR-652-3p,miR-382-5p,miR-378-3p	0,45	0,83		0,85	0,71	0,91	0,71	0,09	0,91	0,29
miR-16-5p,miR-29a-3p,miR-186,miR-150-5p,miR-652-3p,miR-382-5p,miR-378-3p	0,48	0,83	<0,001	0,88	0,64	0,97	0,64	0,03	0,97	0,36
miR-16-5p,miR-29a-3p,miR-1307-3p,miR-150-5p,miR-652-3p,miR-382-5p,miR-378-3p	0,44	0,82	<0,001	0,85	0,71	0,91	0,71	0,09	0,91	0,29
ПГТТ1	0,52	0,86	<0,001	0,84	0,68	0,94	0,68	0,06	0,94	0,32
ГНПО	0,56	0,85	<0,001	0,84	0,68	0,94	0,68	0,06	0,94	0,32
ПГТТ2	0,60	0,78	<0,001	0,79	0,55	0,94	0,55	0,06	0,94	0,45
ПГТТ3	0,63	0,73	0,002	0,79	0,46	1,00	0,45	0,00	1,00	0,55
ПГТТ1,miR-16-5p,miR-1307-3p,miR-186,miR-652-3p,miR-382-5p,miR-378-3p	0,30	0,93	<0,001	0,92	0,93	0,91	0,93	0,09	0,91	0,07
ПГТТ1,miR-16-5p,miR-92a-3p,miR-186,miR-652-3p,miR-382-5p,miR-378-3p	0,40	0,93	<0,001	0,96	0,93	0,97	0,93	0,03	0,97	0,07
ПГТТ1,miR-16-5p,miR-29a-3p,miR-652-3p,miR-382-5p,miR-378-3p	0,40	0,92	<0,001	0,96	0,93	0,97	0,93	0,03	0,97	0,07
ПГТТ1,miR-16-5p,miR-106,miR-652-3p,miR-382-5p,miR-378-3p	0,39	0,92	<0,001	0,96	0,93	0,97	0,93	0,03	0,97	0,07

Примечание: ГНПО – уровень глюкозы натощак при первом обращении, ммоль/л; ПГТТ1 – пероральный глюкозотолерантный тест (ПГТТ) до приема 75 мг глюкозы; ПГТТ2 – ПГТТ через 1 час после приема 75 мг глюкозы; ПГТТ3 – ПГТТ через 2 часа после приема 75 мг глюкозы; Cutoff – точка отсечения, AUC – площадь под кривой, P-value – статистическая значимость моделей, ACC – точность прогнозирования, SEN – чувствительность теста, SPE – специфичность теста, TPR - доля истинно положительных результатов, FPR – доля ложноположительных результатов, TNR – доля истинно отрицательных результатов, FNR – доля ложноотрицательных результатов.

Параметры моделей логистической регрессии прогнозирования ГСД на 11-14 неделе беременности по уровню глюкозы в различных временных точках в плазме периферической крови беременных

		Cutoff	AUC	P-value	ACC	SEN	SPE	TPR	FPR	TNR	FNR
1	ГНПО, ПГТТ1, ПГТТ2, ПГТТ3	0.49	0.94	< 0.001	0.90	0.86	0.91	0.86	0.09	0.91	0.14
2	ГНПО, ПГТТ1, ПГТТ3	0.34	0.94	< 0.001	0.86	0.91	0.83	0.91	0.17	0.83	0.09
3	ГНПО, ПГТТ1, ПГТТ2	0.58	0.92	< 0.001	0.91	0.82	0.97	0.82	0.03	0.97	0.18
4	ПГТТ1, ПГТТ2, ПГТТ3	0.32	0.91	< 0.001	0.88	0.91	0.86	0.91	0.14	0.86	0.09

Примечание: ГНПО – уровень глюкозы натощак при первом обращении, ммоль/л; ПГТТ1 – пероральный глюкозотолерантный тест (ПГТТ) до приема 75 мг глюкозы; ПГТТ2 – ПГТТ через 1 час после приема 75 мг глюкозы; ПГТТ3 – ПГТТ через 2 часа после приема 75 мг глюкозы; Cutoff – точка отсечения, AUC – площадь под кривой, P-value – статистическая значимость моделей, ACC – точность прогнозирования, SEN – чувствительность теста, SPE – специфичность теста, TPR – доля истинно положительных результатов, FPR – доля ложноположительных результатов, TNR – доля истинно отрицательных результатов, FNR – доля ложноотрицательных результатов.

Кроме того, нами было выявлено, что все молекулы мкРНК, участвующие в построении моделей логистической регрессии для диагностики ГСД (рис. 16, табл. 35) на 11-14 неделях беременности, циркулируют в периферической крови пациенток в составе внеклеточных везикул. Методом ПЦР в реальном времени нами была проведена количественная оценка данных мкРНК в везикулярной фракции шести образцов плазмы периферической крови беременных (три образца от женщин с физиологической беременностью и три образца от женщин с ГСД). Для выявления возможности классификации шести образцов ВВ плазмы крови беременных в зависимости от схожести профилей экспрессии мкРНК был использован метод частичной регрессии наименьших квадратов (PLS). Образцы были ранжированы в зависимости от наличия или отсутствия ГСД.

Модель PLS строили на основании данных ПЦР в виде «-ΔCt» для каждой из исследуемых мкРНК в образце. На рисунке 16 представлены графики счетов, построенные по результатам PLS анализа. Образцы ВВ плазмы крови женщин с физиологической беременностью (красные квадраты, рис. 17) сгруппировались вместе и имеют значения первой компоненты (отложены на оси Y) в диапазоне от -0,5 до 3 в отличие от образцов плазмы крови женщин с ГСД (черные точки, рис. 18), 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 (VIP = 1,58), miR-150-5p (VIP = 1,49), miR-186-5p (VIP = 1,15), miR-92a-3p (VIP = 1,00), а наименьшее – miR-652-3p (VIP=0,37).

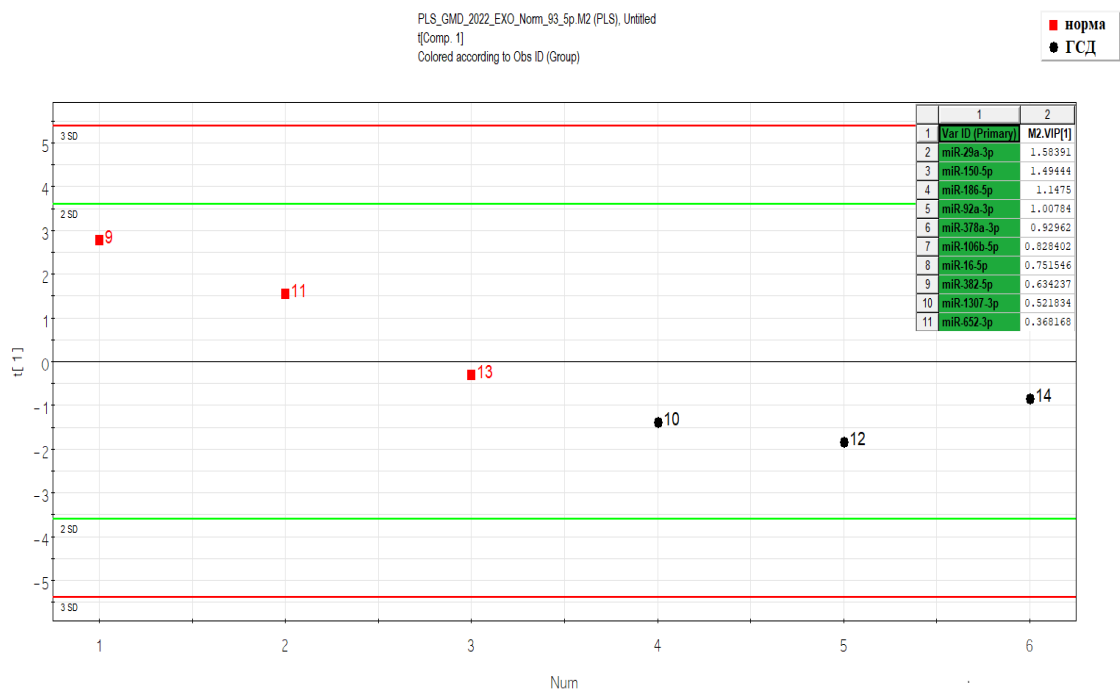


Рисунок 17. Графики счетов, построенные по результатам PLS анализа ОТ-ПЦР данных по относительному количеству 10 мкРНК в экзосомах плазмы периферической крови пациенток на 11-14 неделе беременности

Таким образом, содержание miR-29a-3p, miR-150-5p, miR-186-5p и miR-92a-3p во ВВ плазмы периферической крови беременных отличается при физиологической беременности и при развитии ГСД, что может быть использовано в клинической практике.

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

ГСД является одним из наиболее распространенных заболеваний во время беременности [206] и представляет собой самостоятельный тип диабета. Причина и патогенез ГСД, гетерогенного заболевания, не совсем ясны, но распространенность сахарного диабета неуклонно растет, и это сопровождается параллельным ростом частоты ГСД [207]. ГСД поражает от 2 до 38% беременных во всем мире, при этом оценки распространенности значительно различаются в зависимости от используемых диагностических критериев и изученной выборки населения [208]. Однако доминирующая этиология всплеска случаев ГСД связана с увеличением распространенности ожирения и СД в группе пациенток репродуктивного возраста [209].

Большинство диагнозов ГСД устанавливаются на основании рекомендаций Международной ассоциации групп изучения диабета и беременности (IADPSG). IADPSG выступала за то, что беременные должны быть оценены на предмет манифестного СД на ранних сроках беременности. Эта стратегия раннего тестирования, впоследствии одобренная ВОЗ и большинством других обществ, привела к признанию когорты женщин на ранних сроках беременности, у которых выявляются промежуточные степени гипергликемии [210]. Уровни гликемии до 24 недель беременности, не соответствующие критериям манифестного СД, но удовлетворяющие требованиям для «обычного» ГСД, отмечены как ранний ГСД. Необходимо вникнуть в сущность этой патологии, поскольку она может упростить и сэкономить стратегии скрининга гипергликемии во время беременности и предложить возможности вмешательства раньше, чем обычно, для улучшения исходов, как со стороны матери, так и плода.

Ранний ГСД является часто встречающейся клинической загадкой. Современные диагностические стратегии ГСД на ранних сроках беременности не основаны на адекватных доказательствах. Критерии диагностики «стандартного» ГСД были применены для удобства на ранних

сроках беременности. Однако более новые данные показывают, что промежуточные уровни гипергликемии на ранних сроках беременности могут быть связаны с повышенным риском неблагоприятных исходов. Таким образом, более ранняя диагностика может дать возможность для своевременного вмешательства и улучшения исходов беременности.

Были установлены множественные клинические факторы риска ГСД, включая ожирение, старший репродуктивный возраст матери, семейный анамнез сахарного диабета 2 типа, перенесенный в прошлом ГСД, предыдущий неблагоприятный исход беременности и принадлежность к этнической группе высокого риска [211]. Тем не менее, одних факторов риска недостаточно для точного прогнозирования риска развития ГСД [212]. На протяжении многих лет предпринимались многочисленные попытки идентифицировать биомаркеры ГСД на ранних сроках беременности, такие как адипонектин (гормон, производный от адипоцитов) [213], гликозилированный гемоглобин (HbA1c) [214], а также несколько дополнительных факторов, включая метаболические биомаркеры (например, глобулин, связывающий половые гормоны [215]), биомаркеры воспаления (например, фактор некроза опухоли альфа [216]) и плацентарных биомаркеров (например, переносчиков глюкозы, GLUTs [217]); в настоящее время ни один из них не имеет достаточной достоверности для клинической практики. Мы предполагаем, что эффективность раннего выявления может быть улучшена с использованием дополнительных биомаркеров, таких как внеклеточные везикулы. Следует отметить, что эти биомаркеры представляют ряд преимуществ по сравнению с ранее использованными биомаркерами, включая стабильность при хранении и защиту от деградации [218]. В последние годы была исследована экспрессия циркулирующих микроРНК при ГСД, а также их потенциал в качестве предикторов ГСД. Тем не менее, исследования, которые были проведены до настоящего времени, были сосредоточены на более поздних стадиях беременности (от начала второго триместра до доношенной беременности), а не в первом триместре. В

текущем исследовании мы исследовали обилие циркулирующих микроРНК в плазме беременных в первом триместре, одновременно занимаясь поиском микроРНК, которые наилучшим образом различают ГСД и группу сравнения и которые, таким образом, могут служить потенциальными ранними диагностическими биомаркерами ГСД.

Наше исследование было посвящено исследованию значимости ранней диагностики гестационного сахарного диабета с помощью перорального глюкозо-толерантного теста, а также дополнительных более новых биомаркеров, таких, как внеклеточные везикулы и микроРНК. Нами тщательно проанализированы особенности анамнеза, соматического статуса, течения и исхода беременности, а также течение послеродового периода. Выполнена оценка состояния новорожденных, рожденных от матерей с ГСД, и течения раннего неонатального периода. Проведен анализ факторов риска развития ГСД и исходов беременностей у этих пациенток.

В данной работе был проведен анализ течения и исходов беременностей у 175 женщин. 85 пациенток имели гестационный сахарный диабет, они были подразделены на две группы, где I группу составили пациентки с ранним ГСД (они были разделены на 2 подгруппы: IA – на диетотерапии, IB – на инсулинотерапии), II группу – с поздним ГСД (IIA – на диетотерапии, IIB – на инсулинотерапии), и 90 соматически здоровых женщин (III группа - контрольная).

Мы обнаружили, что женщины, у которых был диагностирован ранний ГСД, были старше, а распространенность ГСД увеличивалась с увеличением возраста (<25 лет, 2,5%; 25-29 лет, 7,5%; 30-34 года, 17,5%; 35-39 лет, 36,2%; ≥40 лет, 36,2%). Риск ГСД линейно возрастает с возрастом, о чем сообщалось в предыдущих исследованиях. Так, исследование с участием китайских беременных показало, что после 35 лет и старше риск ГСД увеличивается в 0,15 раза с каждым годом [219]. Механизм связи между возрастом матери и ГСД пока не ясен. Однако повышение риска ГСД с увеличением возраста может быть связано со следующими факторами. Во-первых, это связано с

функцией окислительного фосфорилирования, с возрастом количество митохондрий островковых клеток уменьшается, поэтому функция инсулина, секретлируемого бета-клетками островков, ослабевает. Во-вторых, способность опосредованного инсулином поглощения глюкозы снижается. И в-третьих, чем старше беременные, тем больше они имеют воздействие психического стресса, который может легко вызвать у них беспокойство, чтобы повысить уровень глюкозы в крови.

ИМТ является распространенным показателем, отражающим степень ожирения. ИМТ до беременности был тесно связан с возникновением ГСД [220]. Женщины с избыточным весом и ожирением во время беременности были склонны к развитию ГСД из-за более сильной инсулинорезистентности. В настоящем исследовании было обнаружено, что пациентки с ранним ГСД имели значимо больший ИМТ, по сравнению с контрольной группой ($p=0,018$), а наибольшие показатели отмечались в подгруппе на инсулинотерапии ($p=0,027$).

Перекрестное исследование показало, что наличие сахарного диабета в анамнезе у родственников первой степени родства имеет положительную корреляцию с развитием ГСД. Так, риск ГСД был значительно повышен у беременных с СД в анамнезе у ближайших родственников по сравнению с женщинами без СД у родственников первой степени родства (по отцовской линии $OR=2,54$; по материнской линии $OR=3,60$) [221]. Кроме того, Мусазаде и др. [24] заключили, что риск развития ГСД у беременных с семейным анамнезом сахарного диабета, по оценкам, в 3,46 раза выше, чем у женщин без семейного анамнеза СД. Результаты нашего исследования показали, что частота сахарного диабета в анамнезе у родственников была выше в группе ГСД, чем в группе без ГСД. Особенно, частота сахарного диабета 2 типа выше у родственников пациенток с ранним ГСД ($p=0,037$).

В этом исследовании женщины с сердечно-сосудистыми заболеваниями (хроническая артериальная гипертензия) до беременности, имели более высокие шансы на развитие раннего ГСД, чем те, у кого их не

было ($p=0,033$). Аналогичные результаты подчеркивают это заключение. Например, в предыдущем исследовании «случай-контроль» был сделан вывод, что артериальная гипертензия до беременности связана с двукратным повышением риска развития ГСД [222]. Так же в многоцентровом исследовании Aburezq et al. показана связь между наличием артериальной гипертензии до беременности и развитием ГСД [223].

Убедительные данные были получены при изучении особенностей гинекологического анамнеза. Частота оперативных вмешательств на матке была достоверно выше в группе с ранним ГСД ($p=0,036$), по сравнению с группой контроля. Обращает внимание, что миома матки чаще встречалась в основной группе, но статистически значимых различий не имела ($p=0,200$). В этом исследовании мы отметили, что СПКЯ во время беременности увеличивает риск развития раннего ГСД ($p=0,020$). В нескольких предыдущих исследованиях были получены аналогичные выводы относительно потенциально пагубного воздействия СПКЯ на беременность. Radon и др. пришли к выводу, что женщины с СПКЯ подвергаются повышенному риску нарушения углеводного обмена во время беременности [224]. Предыдущее исследование показало, что частота ГСД среди женщин с СПКЯ сильно различается в разных исследованиях и составляет от 4,12% до 59,5%. Результаты исследования Yan Q et al. показали, что общая частота ГСД среди женщин с СПКЯ составила 20,64%, что дает относительно точную оценку, и было намного выше, чем в общей популяции беременных [225]. Этот результат свидетельствует о том, что следует принимать меры профилактики и ранней диагностики ГСД у пациенток с СПКЯ.

Повторнобеременные женщины чаще наблюдались в группе с ранним ГСД (79,3%), по сравнению с контрольной группой (65,6%). Применение ВРТ не оказывало влияние на развитие ГСД. Анализ репродуктивной функции показал, что наличие ГСД в предыдущей беременности независимо увеличивает вероятность рецидива. Этот вывод подтвержден в проекте «Женщины Индии со стратегией ГСД» (WINGS), в котором сообщалось, что

женщины с ГСД с большей вероятностью имеют в анамнезе ГСД, чем женщины без этого осложнения в предыдущей беременности [226; 227]. В метаанализе 18 исследований была оценена вероятность рецидива ГСД при последующей беременности, и она составила 48% [228]. Этот результат подтверждает важность целенаправленной предгравидарной подготовки женщин с предшествующим ГСД.

Микроэкологическая среда влагалища сложна, на нее влияют различные факторы, и она подвержена динамическим изменениям [229]. В нашем исследовании была выявлена существенная разница в частоте вульвовагинального кандидоза (ВВК) между пациентками с ГСД и здоровыми беременными уже с 1 триместра беременности, особенно в подгруппе женщин с ранним ГСД на инсулинотерапии. Беременность и СД являются двумя независимыми факторами, вызывающими ВВК [230]. В предыдущих исследованиях также было показано, что беременные с ГСД предрасположены к кандидозной колонизации влагалища [231]. Повышенная гликемия во влагалищной ткани увеличивает адгезию и рост грибка, предрасполагая эпителиальные клетки влагалища к связыванию с *Candida albicans*. Кроме того, гликемия от 10 до 11 ммоль/л может нарушать механизм защиты организма, а гипергликемия уменьшает миграцию нейтрофилов и ослабляет их хемотаксическую и фагоцитарную способности, тем самым повышая чувствительность пациентов с ГСД к ВВК [231]. Вклад ВВК продолжал прослеживаться и во II триместре. Заслуживает внимания тот факт, гипертензивные расстройства беременных, а именно гестационная артериальная гипертензия, статистически значимо чаще встречалась в подгруппе пациенток с ранним ГСД в сравнении с группой сравнения ($p=0,040$). В нашем исследовании многоводие осложнилась беременность у 8,6% женщин с ранним ГСД ($p=0,047$), у 13,6% - в поздним ГСД ($p=0,014$), что соотносится с данными исследования Koushan et al. (Иран), где показано, что многоводие также было ассоциировано с ГСД [232].

ПГТТ широко используется для диагностики ГСД у беременных. Поскольку метаболический статус сильно меняется во время беременности, крайне важно найти оптимальные временные рамки для проведения этого теста. Беременным с различными факторами риска развития ГСД ранний ПГТТ был предложен при первом посещении беременной [31]. Ранний скрининг и диагностика ГСД у женщин с низким риском рассматривались многими исследователями и руководящими принципами [233], но диагностическая точность раннего ПГТТ не была ясна. Более того, поскольку уровень глюкозы натощак естественным образом снижается во время беременности, вызывает беспокойство потенциальная гипердиагностика при более раннем ПГТТ [234]. В этом исследовании мы показали, что значения глюкозы натощак и после приема 75 г глюкозы при более раннем ПГТТ были очень сопоставимы и не заметно отличались от значений глюкозы при стандартном ПГТТ. Этот результат согласуется с результатами исследования Weiss et al, в котором не было различий между двумя ПГТТ с 75 г глюкозы [235]. Воспроизводимость ПГТТ в настоящем исследовании (82,4%) была выше предыдущего отчета Мунанга и его коллег, где воспроизводимость результатов двух ПГТТ, взятых с интервалом в 1 неделю между 24 и 28 неделями беременности была 74,3%. Важность ранней диагностики очевидна. И в настоящем исследовании мы обнаружили, что даже в популяции с низким риском развития ГСД, он диагностируется в 23,5% случаев.

При нормальной беременности, не осложненной ГСД, прослеженная кривая роста плода будет соответствовать национальному стандарту для диаграммы рождения плода в каждой стране, которая варьируется в зависимости от этнической принадлежности и национальности [236]. Однако, независимо от различий в этнической принадлежности и национальности, каждое предыдущее исследование кривых роста плода показало сильную корреляцию между сопутствующими заболеваниями, связанными с беременностью, и отклонением от стандартной кривой роста плода, которое

происходит примерно с 18 недель беременности [237]. Несколько исследований, проведенных различными независимыми исследователями, последовательно установили, что антропометрические параметры плода окружность живота, длина бедра и окружность головы были незначительно увеличены с 18 недель и далее при ГСД [238]. В нашем исследовании мы также обнаружили, что ПМП, ОЖ и ДлБ были выше при беременности с ранним ГСД. И, соответственно, рост плода увеличивается уже на 18-20 неделе беременности, что позволяет предположить, что на плод влияет аномальный метаболизм глюкозы матери еще до проведения стандартного скрининга на ГСД.

Самые высокие показатели встречаемости преждевременных родов наблюдались в группе пациенток с ранним ГСД (12,1%, $p=0,501$), а при внутригрупповом анализе данные имели статистически значимую разницу в подгруппе пациенток с ранним ГСД на инсулинотерапии по сравнению с беременными группы контроля (27,3% против 7,8%, $p=0,020$). Что касается среднего срока родоразрешения, то среди обследованных женщин, он был также ниже среди беременных подгруппы раннего ГСД на инсулинотерапии ($p=0,014$). Пациенты группы раннего ГСД имели более высокую частоту родоразрешения путем операции кесарева сечения (62,1% против 40,0%, $p=0,031$). При внутригрупповом анализе методов родоразрешения статистически значимой разницы получено не было. Родоразрешение путем операции кесарева сечения в экстренном порядке несколько чаще отмечалось среди пациенток IV подгруппы по сравнению с группой III (50% против 33,3%), но достоверных различий получено не было ($p=0,202$). Наиболее частыми показаниями к плановому оперативному родоразрешению у беременных с ГСД явились наличие крупного плода и старший репродуктивный возраст в дополнении сочетанной патологией.

Недоношенными родились 9 (10,6%) детей от матерей с ГСД в сроке гестации 34-36,6 недель. Однако признаки морфофункциональной незрелости имелись у 11 (12,9%) новорожденных. Наибольшая масса детей

при рождении наблюдалась в подгруппе с поздним ГСД на диетотерапии – 3555 (3354; 4028) г, в то время как в группе беременных с нормально протекающей беременностью – 3390 (3065; 3845) г. А наименьшая средняя масса детей при рождении наблюдалась в подгруппе беременных с поздним ГСД на инсулинотерапии – 2554 (2024; 2812) г, что имело статистически значимые различия по сравнению с III группой ($p=0,027$), что предположительно связано с эффектом инсулинотерапии.

Анализ особенностей течения раннего неонатального периода новорожденных у обследованных беременных показал, что родовой травматизм (кефалогематома и перелом ключицы) статистически значимо чаще наблюдался у детей, рожденных от матерей с ранним ГСД. Такое осложнение раннего неонатального периода как РДС достоверно чаще наблюдалось в подгруппе IV 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% ($p=0,026$) - подгруппы IV, что было статистически значимым различием. В контрольной же группе данная патология встречалась у 2,2% новорожденных. Врожденные пороки сердца выявлены у 6 (16,7%) детей IA подгруппы (у 2 – дефект межжелудочковой перегородки, у 3 – дефект межпредсердной перегородки, и только у 1 ребенка критический ВПС: стеноз клапана легочной артерии на грани атрезии) и получены статистически значимые различия по сравнению с группой контроля ($p=0,005$).

Проанализировав сроки госпитализации новорожденных, следует заключить, что выписка новорожденных происходила значительно позже в группе пациенток с ранним ГСД, в сравнении с контрольной группой ($p=0,010$). Также нами было проанализировано количество дней, проведенных беременными в стационаре после родов. Следует отметить, что продолжительность госпитализации статистически значимо выше в группах I и II, чем в контрольной группе ($p=0,048$ и $p=0,010$ соответственно).

Эффективное раннее выявление в первом триместре развития ГСД может отсрочить начало заболевания и уменьшить связанные с ним материнские и перинатальные осложнения. Существует острая необходимость в ранней идентификации женщин, у которых развивается ГСД на поздних сроках беременности, в идеале с использованием доступных и эффективных биомаркеров, с целью более раннего начала терапии. В конечном счете, использование этих биомаркеров может способствовать снижению пагубного воздействия гипергликемии на мать и плод. Поэтому важно исследовать новые подходы к оценке риска, скринингу и диагностике ГСД на ранних сроках. Более раннее лечение потенциально должно привести к снижению неонатальной и материнской заболеваемости.

Следующим этапом нашей работы было изучение особенностей состава и количества внеклеточных везикул в плазме крови в I триместре беременности и оценка их способности к ранней предикции ГСД. 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).

Необходимо отметить, что мы, также как и большинство исследователей в рамках своей работы руководствовались пожеланиями и рекомендациями, разработанными ISEV¹ [119]. В литературе часто существует путаница в названиях наночастиц, однако согласно рекомендациям ISEV, экзосомы и ВВ отождествлять не корректно [239]. В свою очередь, стоит отметить, что экзосомы, являясь самыми маленькими наночастицами среди категорий ВВ (30–100 нм), генерируемые по классическому пути эндосома-мультивезикулярное тело (МВТ) также формируются как довольно разнородная популяция. Н. Zhang, et al. описали отдельную популяцию немембранных экзосом, названную экзомерами (≈ 35

¹ ISEV (The International Society for Extracellular Vesicles) - международная научная организация, которая занимается изучением внеклеточных везикул, основанная в 2011 году.

нм) [240]. Более того коллективом других авторов в дальнейшем показано, что субпопуляция экзосом, названная экзомерами отличается от «классических» экзосом по протеомному составу и включает белки ответа на гипоксию, микротрубочки, участники коагуляционных процессов и ряд других, что функционально также отличает их от «классических» экзосом [241]. ВВ больших размеров, чем экзосомы, в основном получены из плазматической мембраны и достигают размеров в диапазоне от сотен нм до нескольких мкм. Среди них наиболее изученными являются апоптотические тельца [242] и эктосомы/микровезикулы [243].

Существует распространенное мнение, что большинство доступных наборов для экстракции изолируют именно экзосомы, что позволяет быстрее сосредоточиться на наименьшей популяции ВВ по сравнению с другими популяциями. Однако процесс биогенеза и высвобождения больших ВВ (микровезикулы и апоптотические тела), полученных из плазматической мембраны связан как с механическими, так и с биохимическими процессами. В связи с этим, биогенез больших ВВ, микровезикул в частности, очень чувствителен к условиям микросреды; именно этим фактором, по крайней мере частично, объясняется огромная изменчивость данных, полученных как о биогенезе, так и о функционировании больших ВВ. Исключением здесь являются апоптотические тельца, генез которых связан исключительно с состоянием «запрограммированной клеточной смерти» [244].

Таким образом, опираясь на вышеупомянутые данные, мы в данной работе использовали термин ВВ, обобщая и постулируя тем самым тот факт, что с помощью признанного метода дифференциального центрифугирования без градиента мы получаем смешанную популяцию ВВ, состоящую преимущественно из экзосом с примесью микровезикул, о чем свидетельствуют данные гистограмм распределения наночастиц по размерам методом анализа траектории наночастиц (NTA).

Метод дифференциального центрифугирования выбран нами не случайно, а в связи с его высокой продуктивностью, относительной

простотой исполнения и эффективной интеграцией в клинику [245]. В литературе действительно имеются данные, что высокоскоростное центрифугирование более 4 ч значительно снижает чистоту ВВ и приводит к их механическому повреждению [246], однако мы используем меньшие времена центрифугирования и проводим все операции согласно протоколу, разработанному для получения ВВ из плазмы крови, адаптированному под наши технические возможности [247] и, судя, по визуальным данным НТА, а также электронным микрофотографиям, получаем достаточно однородную популяцию ВВ. Касаясь стабильности ВВ и условий хранения биологических жидкостей мы руководствовались данными литературы, одобренными ISEV. В частности, недавно было показано, что для долгого хранения полученных ВВ наиболее оптимальными условиями является температурный режим -80°C [248] с избеганием циклов заморозки/разморозки.

Наши данные согласуются с результатами анализа траекторий наночастиц, полученных аналогичным путем ультрацентрифугирования [249]. Кроме того, в исследовании С. Salomon et al. показано, что беременные, у которых развивается ГСД, демонстрируют повышенную концентрацию как общих, так и плацентарных ВВ, по сравнению с «нормогликемическими» беременными [247]. Это увеличение циркулирующих ВВ, связанное с ГСД, продолжается на протяжении всей беременности, при этом количество циркулирующих ВВ в течение беременности увеличивается примерно в 2 раза по сравнению со здоровыми беременными [250].

Важно отметить, что ВВ могут быть выделены из различных биологических жидкостей (плазмы, мочи и слюны) с использованием различных методик, в том числе ультрацентрифугирования; они являются очень стабильными компонентами секрета клеток и способны защитить свое биологическое содержимое от деградации. Характеристика распределения ВВ, а также их общее количество между 10 и 14 неделями

беременности могут быть использованы для выявления бессимптомных женщин, у которых в последующие сроки диагностируется ГСД, раннего лечения и профилактики не только специфических анте- и перинатальных осложнений, но и трансформации ГСД в другие формы диабета после родов для беременной, а для плода – облегчение бремени перинатального программирования, связанного с внутриутробной гипергликемией.

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, поскольку ВВ – важный компонент секрета различных клеток, обеспечивающий комплексную передачу биологически активных молекул и горизонтальный перенос генетической информации. В связи с этим весьма перспективным представляется исследование содержимого ВВ, в частности, анализ профиля микроРНК. Имеются данные о том, что ВВ с повышенным содержанием определенных микроРНК могут быть использованы в качестве биомаркеров для диагностики различных заболеваний [251].

Появляются доказательства того, что аномальная экспрессия микроРНК связана с осложнениями беременности, такими как преэклампсия и ГСД [252]. С момента их открытия микроРНК были в центре внимания трансляционных клинических исследований также и в патофизиологии ГСД [253]. В последние годы была исследована экспрессия циркулирующих микроРНК при ГСД, а также их потенциал в качестве биомаркеров диагностики этого осложнения беременности. МикроРНК участвуют в различных механизмах, связанных с беременностью и ГСД. Кроме того, циркулирующие микроРНК стабильны и обнаруживаются в крови матери; следовательно, они являются многообещающими биомаркерами-кандидатами для неинвазивных диагностических тестов осложнений беременности. В этом исследовании мы оценили возможность

циркулирующих микроРНК для прогнозирования ГСД в первом триместре беременности. Таким образом, была определена панель из комбинации 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. При сочетанном определении глюкозы натощак и этой комбинации мкРНК выявлено значительное улучшение прогностической ценности. Также наше исследование показывает значительную разницу в экспрессии микроРНК на ранних сроках беременности, заключенных во ВВ, между пациентами с ГСД и нормальной беременностью.

В соответствии с нашими результатами, повышенный уровень циркулирующей miR-16-5p был также показан Zhu et al. [55] в периферической крови, взятой у женщин Китая на ранних сроках беременности (16-19 недель беременности) [254]. В исследовании из Бразилии показано, что miR-1307-3p является общей для трех типов диабета (СД 1 типа, СД 2 типа и ГСД) и связана с диабетом как таковым. Carreras-Badosa et al. идентифицировали 13 циркулирующих микроРНК, повышающих и понижающих регуляцию при ожирении во время беременности, среди которых miR-30a-5p, miR-103, miR-130a, miR-221, miR-324-3p и miR-652, также связанные с увеличением веса во время беременности. Также miR-652, тесно связана с метаболическими параметрами во время беременности и была определена как независимый предиктор пре- и/или постнатального роста [255]. Сверхэкспрессия miR-29 подавляет стимулированное инсулином поглощение глюкозы и может привести к инсулинорезистентности [256]. В мировой литературе нет исследований, описывающих miR-382-5p и miR-378a-3p.

Наши результаты подтверждают важность раннего скрининга и ведения ГСД для населения в целом, что может оказать благотворное влияние на снижение осложнений ГСД. В настоящее время проводится множество исследований, посвященных ценности раннего скрининга ГСД. Simmons et al. опубликовали свой протокол рандомизированного

контролируемого исследования под названием «Лечение гестационного сахарного диабета» (ТОВОГМ) [257]. Целью этого исследования является изучение результатов и экономической эффективности лечения рано диагностированного ГСД. Результаты этого исследования прояснят пользу раннего скрининга и ведения ГСД во время беременности. Эффективное раннее выявление в первом триместре развития ГСД может отложить начало заболевания и связанные с ним материнские и перинатальные осложнения. Также в недавнем систематическом обзоре оценивалась экономическая эффективность выявления и/или лечения ГСД. Это исследование показало, что ни ранний скрининг, ни лечение ГСД не кажутся убедительно экономически эффективными в странах с высоким уровнем дохода, но они предположили, что ранний скрининг и надлежащее выявление ГСД могут быть целесообразными в странах с низким/средним уровнем дохода из-за различных систем здравоохранения и других приоритетов здравоохранения [258258]. Результаты нашего исследования могут оказать существенное влияние на будущие подходы к скринингу ГСД путем разработки потенциально простого, экономически эффективного и удобного для беременных метода скрининга ГСД в первом триместре.

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 глюкозотолерантного 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 массо-ростовые 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.
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 персонафицированный 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.
5. Применение разработанного алгоритма ведения беременных высокого риска развития ГСД с ранним проведением ПГТТ, с включением молекулярных методов, мониторингом гликемии и темпов роста плода позволит снизить ближайшие и отдаленные осложнения этого большого акушерского синдрома.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Аббревиатура	Расшифровка
АИТ	аутоимунный тиреоидит
ВВ	внеклеточные везикулы
ВВК	вульвовагинальный кандидоз
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения
ВРТ	вспомогательные репродуктивные технологии
ГАГ	гестационная артериальная гипертензия
ГВПН	глюкоза венозной плазмы натощак
ГСД	гестационный сахарный диабет
ГСПГ	глобулин, связывающий половые гормоны
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ИМТ	индекс массы тела
ИЦН	истмико-цервикальная недостаточность
мкРНК	малые некодирующие рибонуклеиновые кислоты
ОАГА	отягощенный акушерско-гинекологический анамнез
ПГТТ	пероральный глюкозо-толерантный тест
ПСП	показатель состояния плода
ПЦР	полимеразная цепная реакция
РДС	респираторный дистресс синдром
РКИ	рандомизированное клиническое исследование
СД	сахарный диабет
СОГВП	случайное определение глюкозы венозной плазмы
ССЗ	сердечно-сосудистые заболевания
СПКЯ	синдром поликистозных яичников

УЗИ	ультразвуковое исследование
ФПК	фетоплацентарный кровоток
ЭХО-КГ	эхокардиография
ACOG	The American College of Obstetricians and Gynecologists (Американское общество акушеров и гинекологов)
ADA	American Diabetes Association (Американское общество по диабету)
DIPSI	Diabetes in Pregnancy Study Group India (Индийская группа по исследованию диабета при беременности)
FIGO	The International Federation of Gynecology and Obstetrics (международная ассоциация акушеров и гинекологов)
GLUT	glucose transporter (белок-переносчик глюкозы)
HbA1c	гликозилированный гемоглобин
IADPSG	International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (Международная групповая ассоциация по изучению диабета и беременности)
NICE	The National Institute for Health and Care Excellence (Национальный институт здравоохранения и повышения квалификации)
NTA	анализ траектории наночастиц
OR	отношение шансов
PAPP-A	плацентарный протеин, ассоциированный с беременностью

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 8th ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation; 2017.
2. Дедов И.И., Шестакова М.В., Майорова А.Ю. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом. Москва; 2019.
3. Scholtens DM, Kuang A, Lowe LP, Hamilton J, Lawrence JM, Lebenthal Y, et al. Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome Follow-up Study (HAPO FUS): maternal glycemia and childhood glucose metabolism. *Diabetes Care*. 2019;42(3):381–92.
4. Li X., Zhang W., Lin J., Liu H., Yang Z., Teng Y. et al. Risk factors for adverse maternal and perinatal outcomes in women with preeclampsia: analysis of 1396 cases. *J. Clin. Hypertens. (Greenwich)*. 2018;20(6):1049-57.
5. Hartling L, Dryden DM, Guthrie A, Muise M, Vandermeer B, Donovan L. Benefits and harms of treating gestational diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis for the U.S. Preventive Services Task Force and the National Institutes of Health Office of Medical Applications of research. *Ann Intern Med*. 2013;159(2):123–9.
6. Бурумкулова Ф.Ф. Гестационный сахарный диабет: Эндокринологические, акушерские и перинатальные аспекты // *Международный эндокринологический журнал*. 2011. №3. С.78-90
7. World Health Organization Diagnostic Criteria and Classification of Hyperglycaemia First Detected in Pregnancy: A World Health Organization Guideline (2013).
8. Long H. Diagnosing gestational diabetes: can expert opinions replace scientific evidence? *Diabetologia*. 2011;54:2211–2213.
9. McIntyre HD, Jensen DM, Jensen RC, et al. Gestational diabetes mellitus: does one size fit all? A challenge to uniform worldwide diagnostic thresholds. *Diabetes Care*. 2018;41:1339–1342.
10. N Wah Cheung, Robert G Moses. Gestational Diabetes Mellitus: Is It Time to Reconsider the Diagnostic Criteria? *Diabetes Care*. 2018;41(7):1337-1338.
11. Colombo M., Raposo G., They C. Biogenesis, Secretion and Intercellular Interactions of Exosomes and Other Extracellular Vesicles. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol*. 2014;30:255–289.
12. Sarker S., Scholz-Romero K., Perez A., Illanes S.E., Mitchell M.D., Rice G.E., Salomon C. Placenta-derived exosomes continuously increase in maternal circulation over the first trimester of pregnancy. *J. Transl. Med*. 2014;12:204.
13. Salomon C, Scholz-Romero K, Sarker S, Sweeney E, Kobayashi M, Correa P, et al. Gestational Diabetes Mellitus Is Associated With Changes in the Concentration and Bioactivity of Placenta-Derived Exosomes in Maternal Circulation Across Gestation. *Diabetes*. 2016;65(3):598–609.
14. Sovio U, Moraitis AA, Wong HS, Smith GCS. Universal vs selective ultrasonography to screen for large-for-gestational-age infants and associated morbidity. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018;51:783–791.

15. Simpson KJ, Pavicic M, Lee GT. What is the accuracy of an early third trimester sonogram for identifying LGA infants born to GDM patients diagnosed with the one-step approach? *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018;3:2628–2633.
16. Rekawek P, Liu L, Getrajdman C, Brooks C, Pan S, Overbey J, Wagner B. Large-for-gestational age diagnosed during second-trimester anatomy ultrasound and association with gestational diabetes and large-for-gestational age at birth. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2020;56(6):901-905.
17. J. Immanuel, D. Simmons. Screening and treatment for early-onset gestational diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Curr Diab Rep.* 2017;17(11):115.
18. A.M. Egan, M. Hod, T. Mahmood, F.P. Dunne. Perspectives on diagnostic strategies for hyperglycaemia in pregnancy – dealing with the barriers and challenges: Europe. *Diabetes Res Clin Pract.* 2018;145:67-72.
19. H.D. McIntyre, S. Colagiuri, G. Roglic, M. Hod. Diagnosis of GDM: a suggested consensus. *Best Pract Res Clin ObstetGynaecol.* 2015;29(2):194-205.
20. Salomon C, Scholz-Romero K, Sarker S, Sweeney E, Kobayashi M, Correa P. Gestational Diabetes Mellitus Is Associated With Changes in the Concentration and Bioactivity of Placenta-Derived Exosomes in Maternal Circulation Across Gestation. *Diabetes.* 2016;65(3):598-609.
21. Plows J.F., Stanley J.L., Baker P.N., Reynolds C., Vickers M.H. The Pathophysiology of Gestational Diabetes Mellitus. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19:3342.
22. Сухих Г.Т., Краснопольский В.И., Рунихина Н.К. Переход на новый уровень ведения гипертензивных и метаболических осложнений при беременности: современные критерии диагностики гестационного сахарного диабета. *Акушерство и гинекология.* 2013; 3: 5-9. [Sukhikh G.T., Krasnopol'skij V.I., Runihina N.K. Transition to a new level of management of hypertensive and metabolic complications during pregnancy: current criteria for the diagnosis of gestational diabetes. *Obstetrics and gynecology.* 2013; 3: 5-9. (in Russian)].
23. Бурумкулова Ф.Ф., Петрухин В.А. Гестационный сахарный диабет: вчера, сегодня, завтра // *Терапевтический архив.* 2014. №10. С.109-15
24. Pastorino S., Bishop T., Crozier S.R., Granström C., Kordas K., Küpers L.K. et al. Associations between maternal physical activity in early and late pregnancy and offspring birth size: remote federated individual level meta-analysis from eight cohort studies. *BJOG.* 2019;126(4):459-70.
25. Melchior H, Kurch-Bek D, Mund M. The Prevalence of Gestational Diabetes. *Dtsch Arzteb Int.* 2017;114(24):412-8.
26. Hod M., Kapur A., Sacks D.A., Hadar E., Agarwal M., Di Renzo G.C., CaberoRoura L., McIntyre H.D., Morris J.L., Divakar H. The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) Initiative on gestational diabetes mellitus: A pragmatic guide for diagnosis, management, and care. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 2015;131(Suppl. 3).
27. Покусаева В.Н., Амалицкий В.Ю., Сехин С.В. и др. Гипергликемия в 1 триместре беременности и риск развития гестационного сахарного диабета: пилотное исследование. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии.* 2016;15,94-99.

28. Committee on Practice Bulletins—Obstetrics ACOG practice bulletin no 190: gestational diabetes mellitus. *Obstet Gynecol.* 2018;131:e49–e64.
29. Berger H, Gagnon R, Sermer M, Basso M, Bos H, Brown RN, et al. Diabetes in pregnancy. *J ObstetGynaecol Can.* 2016;38:667–679.
30. Gestational diabetes. Current Care Guidelines. Working group set up by the Finnish Medical Society Duodecim, the Finnish Diabetes Associations Medical Advisory Board and the Finnish Society of Obstetrics and Gynaecology. Helsinki: The Finnish Medical Society Duodecim, 2013.
31. American Diabetes Association. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of medical care in diabetes – 2020. *Diabetes Care.* 2020;43;Suppl1:S14-31.
32. Kharroubi AT, Darwish HM. Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World J Diabetes.* 2015;6(6):850-67.
33. Петрухин ВА, Бурумкулова ФФ, Титова ТВ, Головченко МА, Котов ЮБ. Распространённость гестационного сахарного диабета в Московской области: результаты скрининга. *Российский вестник акушера гинеколога.* 2012;4:81-4. [V.A.Petrukhin, F.F. Burumkulova, T.V. Titova, M.A. Golovchenko, Yu.B. Kotov. Prevalence of gestational diabetes in the Moscow Region: screening results. *Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist.* 2012;4: 81-4. (in Russian)].
34. Бондарь И.А., Малышева А.С., Зенкова Е.В. Основные факторы риска гестационно-го сахарного диабета // *Медицина и образование в Сибири.* 2013. № 4. С. 61
35. Бардымова Т.П., Березина М.В., Михалева О.Г., Мистяков М.В. Ожирение и гестационный сахарный диабет // *Сибирский медицинский журнал (Иркутск).* 2015. № 6. С. 9-15.
36. Xiao Y., Chen R., Chen M., Luo A., Chen D., Liang Q. et al. Age at menarche and risks of gestational diabetes mellitus: a meta-analysis of prospective studies. *Oncotarget.* 2017; 9(24):17133-40.
37. Dos Santos PA, Madi JM, da Silva ER, Vergani DOP, de Araújo BF, Garcia RMR. Gestational Diabetes in the Population Served by Brazilian Public Health Care. Prevalence and Risk Factors. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2020;42(1):12-18.
38. Краснопольский В.И., Петрухин В.А., Чечнева М.А., Лысенко С.Н., Ермакова Л.Б. Антенатальная ультразвуковая диагностика диабетической фетопатии и макросомии. *Архив акушерства и гинекологии им. В. Ф. Снегирева.* 2014;1,51-53.
39. Peaceman A.M., Clifton R.G., Phelan S. Lifestyle interventions limit gestational weight gain in women with overweight or obesity: LIFE-moms prospective metaanalysis. *Obesity (Silver Spring).* 2018;26(9):1396-404.
40. Zhang H, Wang Q, He S, Wu K, Ren M, Dong H, Di J, Yu Z, Huang C. Ambient air pollution and gestational diabetes mellitus: A review of evidence from biological mechanisms to population epidemiology. *Sci Total Environ.* 2020;719:137349.

41. IzciBalsarak B, Pien GW, Prasad B, Mastrogiannis D, Park C, Quinn LT, Herdegen J, Carley DW. Obstructive Sleep Apnea Is Associated with Newly-Diagnosed Gestational Diabetes Mellitus. *Ann Am Thorac Soc.* 2020.
42. Bao W, Michels KB, Tobias DK et al. Parental smoking during pregnancy and the risk of gestational diabetes in the daughter. *Int J Epidemiol.* 2016;45:160–169.
43. Artal R, O'Toole M. Guidelines of the American College of Obstetricians and Gynecologists for exercise during pregnancy and the postpartum period. *Br J Sports Med.* 2003;37:6–12.
44. Tobias DK, Zhang C, van Dam RM, Bowers K, Hu FB. Physical activity before and during pregnancy and risk of gestational diabetes mellitus: a meta-analysis. *Diabetes Care.* 2011;34:223–229
45. Mooi N., Ncama B.P. Evidence on nutritional therapy practice guidelines and implementation in adult critically ill patients: A systematic scoping review. *Curationis.* 2019;42:e1–e13.
46. Filardi T., Panimolle F., Crescioli C., Lenzi A., Morano S. Gestational Diabetes Mellitus: The Impact of Carbohydrate Quality in Diet. *Nutrients.* 2019;11:1549.
47. Isolauri E., Rautava S., Collado M.C., Salminen S. Role of probiotics in reducing the risk of gestational diabetes. *Diabetes Obes. Metab.* 2015;17:713–719.
48. Vasileiou V., Kyrtzoglou E., Paschou S.A., Kyprianou M., Anastasiou E. The impact of environmental temperature on the diagnosis of gestational diabetes mellitus. *Eur. J. Endocrinol.* 2018;178:209–214.
49. Horsch A., Kang J.S., Vial Y., Ehlert U., Borghini A., Marques-Vidal P., Jacobs I., Puder J.J. Stress exposure and psychological stress responses are related to glucose concentrations during pregnancy. *Br. J. Health Psychol.* 2016;21:712–729.
50. Ходжаева З.С., Снеткова Н.В., Муминова К.Т., Горина К.А., Абрамова М.Е, Есаян Р.М. Особенности течения беременности у женщин с гестационным сахарным диабетом. *Акушерство и гинекология.* 2020; 7: 47-52. [Khodzhaeva Z.S., Snetkova N.V., Muminova K.T., Gorina K.A., Abramova M.E., Esayan R.M. Clinical characteristics of pregnancy in women with gestational diabetes mellitus. *Obstetrics and Gynecology.* 2020; 7: 47-52.
51. Johns E.C., Denison F.C., Norman J.E., Reynolds R.M. Gestational Diabetes Mellitus: Mechanisms, Treatment, and Complications. *Trends Endocrinol. Metab.* 2018;29:743–754.
52. Демидова Т.Ю., Ушанова Ф.О. Патофизиологические аспекты развития гестационного сахарного диабета. *PMЖ. Медицинское обозрение.* 2019;10,86-91.
53. Stanley J., Cheung C.C., Rueda-Clausen C., Sankaralingam S., Baker P.N., Davidge S.T. Effect of Gestational Diabetes on Maternal Artery Function. *Reprod. Sci.* 2011;18:342–352.
54. Dharmashankar K., Widlansky M.E. Vascular Endothelial Function and Hypertension: Insights and Directions. *Curr. Hypertens. Rep.* 2010;12:448–455.
55. Sullivan S.D., Umans J.G., Ratner R.E. Gestational Diabetes: Implications for Cardiovascular Health. *Curr. Diabetes Rep.* 2011;12:43–52.
56. Weissgerber T., Mudd L.M. Preeclampsia and diabetes. *Curr. Diabetes Rep.* 2015;15:9–579.

57. Kruse A., Darling M.S., Hansen M.K.L., Markman M.J., Lauszus F., Wielandt H.B. Recurrence of gestational diabetes in primiparous women. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 2015;94:1367–1372.
58. Kc K., Shakya S., Zhang H. Gestational Diabetes Mellitus and Macrosomia: A Literature Review. *Ann. Nutr. Metab.* 2015;66:14–20.
59. Illsley N., Baumann M.U. Human placental glucose transport in fetoplacental growth and metabolism. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* 2020;1866:165359.
60. Yoon M.-S. The Role of Mammalian Target of Rapamycin (mTOR) in Insulin Signaling. *Nutrients.* 2017;9:1176.
61. Dimasuay K.G., Boeuf P., Powell T.L., Jansson T. Placental Responses to Changes in the Maternal Environment Determine Fetal Growth. *Front. Physiol.* 2016;7:2759.
62. Castillo-Castrejon M., Powell T.L. Placental Nutrient Transport in Gestational Diabetic Pregnancies. *Front. Endocrinol.* 2017;8:306.
63. Logan K.M., Gale C., Hyde M., Santhakumaran S., Modi N. Diabetes in pregnancy and infant adiposity: Systematic review and meta-analysis. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* 2016;102:F65–F72.
64. Sovio U., Murphy H.R., Smith G.C. Accelerated Fetal Growth Prior to Diagnosis of Gestational Diabetes Mellitus: A Prospective Cohort Study of Nulliparous Women. *Diabetes Care.* 2016;39:982–987.
65. Dunn A.B., Hanson L., VandeVusse L., Leslie S. Through the Microbial Looking Glass. *J. Périnat. Neonatal Nurs.* 2019;33:35–51.
66. Chawanpaiboon S., Vogel J.P., Moller A.-B., Lumbiganon P., Petzold M., Hogan D., Landoulsi S., Jampathong N., Kongwattanakul K., Laopaiboon M., et al. Global, regional, and national estimates of levels of preterm birth in 2014: A systematic review and modelling analysis. *Lancet Glob. Health.* 2018;7:e37–e46.
67. Rozance P.J., Hay W.W. Hypoglycemia in Newborn Infants: Features Associated with Adverse Outcomes. *Neonatology.* 2006;90:74–86.
68. Sweet C.B., Grayson S., Polak M. Management Strategies for Neonatal Hypoglycemia. *J. Pediatr. Pharmacol. Ther.* 2013;18:199–208.
69. Kouhkan A., Khamseh M.E., Moini A., Pirjani R., Valojerdi A.E., Arabipour A. et al. Predictive factors of gestational diabetes in pregnancies following assisted reproductive technology: a nested case-control study. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2018;298(1):199-206.
70. Scholtens DM, Kuang A, Lowe LP, Hamilton J, Lawrence JM, Lebenthal Y, et al. Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome Follow-up Study (HAPO FUS): maternal glycemia and childhood glucose metabolism. *DiabetesCare.* 2019;42(3):381–92.
71. Li X., Zhang W., Lin J., Liu H., Yang Z., Teng Y. et al. Risk factors for adverse maternal and perinatal outcomes in women with preeclampsia: analysis of 1396 cases. *J. Clin. Hypertens. (Greenwich).* 2018;20(6):1049-57.

72. Tam W.H., Ma R.C., Ozaki R., Li A.M., Chan M.H.M., Yuen L.Y., Lao T.T.H., Yang X., Ho C.S., Tutino G.E., et al. In Utero Exposure to Maternal Hyperglycemia Increases Childhood Cardiometabolic Risk in Offspring. *Diabetes Care*. 2017;40:679–686.
73. Leybovitz-Haleluya N., Wainstock T., Landau D., Sheiner E. Maternal gestational diabetes mellitus and the risk of subsequent pediatric cardiovascular diseases of the offspring: A population-based cohort study with up to 18 years of follow up. *Acta Diabetol*. 2018;55:1037–1042.
74. Yu Y., Arah O.A., Liew Z., Cnattingius S., Olsen J., Sørensen H.T., Qin G., Li J. Maternal diabetes during pregnancy and early onset of cardiovascular disease in offspring: Population based cohort study with 40 years of follow-up. *BMJ*. 2019;367:l6398.
75. Miller NE, Curry E, Laabs SB, Manhas M, Angstman K. Impact of gestational diabetes diagnosis on concurrent depression in pregnancy. *J PsychosomObstetGynaecol*. 2020: 1-4.
76. Плеханова М.А., Бурумкулова Ф.Ф., Петрухин В.А., Панов А.Е., Будыкина Т.С., Лысенко С.Н., Троицкая М.В., Засыпкина О.С. Акушерские и перинатальные исходы у беременных с ранним и поздним выявлением гестационного сахарного диабета. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2021;21(2):44–49.
77. Brown J., Grzeskowiak L., Williamson K., Downie M.R., et al. Insulin for the treatment of women with gestational diabetes. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016;1:CD012037.
78. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes–2014. *Diabetes Care*(2014). 37(Suppl. 1):S14–80.
79. Беловоденко М.А., Зенкова Е.В. Влияние гипергликемии на плод при гестационном и манифестном сахарном диабете типа 2. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2018;2,34–42.
80. McIntyre HD, Sacks DA, Barbour LA, Feig DS, Catalano PM, Damm P, et al. Issues with the diagnosis and classification of hyperglycemia in early pregnancy. *Diabetes Care*. 2016;39:53-4.
81. World Health Organization Diagnostic Criteria and Classification of Hyperglycaemia First Detected in Pregnancy: A World Health Organization Guideline (2013).
82. Hod M, Kapur A, Sacks DA, Hadar E, Agarwal M, Di Renzo GC, et al. The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) initiative on gestational diabetes mellitus: a pragmatic guide for diagnosis, management, and care. *Int J Gynaecol Obstet*. 2015;131(Suppl.):173–211.
83. National Collaborating Centre for Women’s and Children’s Health (UK) Diabetes in pregnancy: management of diabetes and its complications from preconception to the postnatal period. London: National Institute for Health and Care Excellence (UK); 2015.
84. LineeGuidaGravidanzafisiologica. Sistema nazionale per le lineeguidadell’IstitutoSuperiore di Sanita. 2012.
85. Associazione Medici Diabetologi- Società Italiana di Diabetologia. Standard italiani per la cura del diabetemellito, 2018.
86. Bianchi C, De Gennaro G, Romano M et al. Italian national guidelines for the screening of gestational diabetes: time for a critical appraisal? *NutrMetab Cardiovasc Dis*. 2017;27:717–722.

87. Yang HX. Diagnostic criteria for gestational diabetes mellitus (WS 331-2011). *Chin Med J (Engl)*. 2012;125(7):1212-3.
88. Seshiah V, Balaji V, Shah SN, Joshi S, Das AK, Sahay BK, et al. Diagnosis of gestational diabetes mellitus in the community. *J Assoc Physicians India*. 2012;60:15-7.
89. Zhu WW, Yang HX, Wei YM, Yan J, Wang ZL, Li XL, et al. Evaluation of the value of fasting plasma glucose in the first prenatal visit to diagnose gestational diabetes mellitus in China. *Diabetes Care*. 2013;36:586–90.
90. C. Wang, W. Zhu, Y. Wei et al. The predictive effects of early pregnancy lipid profiles and fasting glucose on the risk of gestational diabetes mellitus stratified by body mass index. *J Diabetes Res*. 2016;3013567.
91. Mane L, Flores-Le Roux JA, Pedro-Botet J, Gortazar L, Chillaron JJ, Llauro G, Paya A, Benaiges D. Is fasting plasma glucose in early pregnancy a better predictor of adverse obstetric outcomes than glycated haemoglobin? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2019;234:79-84.
92. Meek CL, Murphy HR, Simmons D. Random plasma glucose in early pregnancy is a better predictor of gestational diabetes diagnosis than maternal obesity. *Diabetologia*. 2016;59(3):445-52.
93. J. Harreiter, D. Simmons, G. Desoye et al. IADPSG and WHO 2013 gestational diabetes mellitus criteria identify obese women with marked insulin resistance in early pregnancy. *Diabetes Care*. 2016;39(7):e90-2.
94. Jokelainen M, Stach-Lempinen B, Rönö K, Nenonen, Kautiainen H, Teramo K, Klemetti MM. Oral glucose tolerance test results in early pregnancy: A Finnish population-based cohort study. *Diabetes Res Clin Pract*. 2020;162:108077.
95. Дедов И.И., Сухих Г.Т., Краснополяский В.И., ред. Гестационный сахарный диабет: диагностика, лечение и послеродовое наблюдение. Клинические рекомендации (протокол). М.; 2014. [Grandfathers I.I., Sukhikh G.T., Krasnopolsky V.I., ed. Gestational diabetes mellitus: diagnosis, treatment and postpartum observation. Clinical recommendations (protocol). M .;2014.(in Russian)].
96. Fong A, Serra AE, Gabby L, Wing DA, Berkowitz KM. Use of hemoglobin A1c as an early predictor of gestational diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol*. 2014;211:641.
97. Hughes RCE, Moore MP, Gullam JE, Mohamed K, Rowan J. An early pregnancy HbA1c $\geq 5.9\%$ (41 mmol/mol) is optimal for detecting diabetes and identifies women at increased risk of adverse pregnancy outcomes. *Diabetes Care*. 2014;37:2953–9.
98. Amylidi S, Mosimann B, Stettler C, Fiedler GM, Surbek D, Raio L. First-trimester glycosylated hemoglobin in women at high risk for gestational diabetes. *Acta ObstetGynecol Scand*. 2016;95:93–7.
99. Dereke J, Nilsson C, Strevens H, Landin-Olsson M, Hillman M. Pregnancy-associated plasma protein-A2 levels are increased in early-pregnancy gestational diabetes: a novel biomarker for early risk estimation. *Diabet Med*. 2020;37(1):131-137.

100. Alamolhoda SH, Yazdkhasti M, Namdari M, Zakariayi SJ, Mirabi P. Association between C-reactive protein and gestational diabetes: a prospective study. *J ObstetGynaecol.* 2020;40(3):349-353.
101. Yadav A, Kataria MA, Saini V, Yadav A. Role of leptin and adiponectin in insulin resistance. *Clin Chim Acta.* 2013;417:80–4.
102. Iliodromiti S, Sassarini J, Kelsey TW, Lindsay RS, Sattar N, Nelson SM. Accuracy of circulating adiponectin for predicting gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Diabetologia.* 2016;59:692–9.
103. Mir B., Goettsch C. Extracellular Vesicles as Delivery Vehicles of Specific Cellular Cargo. *Cell.* 2020;9(7):1601.
104. Guo W, Wang H, Liu Q, Yuan Y, Jing Y, Yang X. Analysis of the correlation of gestational diabetes mellitus and peripheral ferritin with iron levels in early pregnancy. *Minerva Endocrinol.* 2019;44(1):91-96.
105. Wolf P. The nature and significance of platelet products in human plasma. *Br J Haematol.* 1967;13:269.
106. Michalke W., Loewenstein W. Communication between cells of different type. *Nature.* 1971;5306,121–122.
107. Gyorgy B., Szabo T., Paszoti M. et al. MembraneVesicles, Currentstate-of-the-art: emerging role of extracellular vesicles. *Cell. Mol. LifeSci.* 2011;16,2667–2688.
108. Raposo G., Stahl P. Extracellular vesicles: A new communication paradigm? *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2019;9,509–510.
109. Colombo M, Raposo G, Théry C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2014;30(1):255-289.
110. Kowal J, Tkach M, They C. Biogenesis and secretion of exosomes. *CurrOpin Cell Biol.* 2014;29:116-125.
111. Caruso S, Poon IKH. Apoptotic cell-derived extracellular vesicles: more than just debris. *Front Immunol.* 2018;9:1486.
112. Poutsika DD, Schroder EW, Taylor DD, Levy EM, Black PH, et al. Membrane vesicles shed by murine melanoma cells selectively inhibit the expression of Ia antigen by macrophages. *J Immunol.* 1985;134(1):138-144.
113. Dostert G., Mesure B., Menu P., Velot E. How Do Mesenchymal Stem Cells Influence or Are Influenced by Microenvironment through Extracellular Vesicles Communication? *Front Cell Dev Biol.* 2017;5:6.
114. Lipets E., Vlasova O., Urnova E. et al. Circulating contact-pathway-activating microparticlestogether with factors IXa and XIa induce spontaneous clotting in plasma of hematology and cardiologic patients. *PLoS One.* 2014;9: e87692.
115. Caruso S, Poon IKH. Apoptoticcell-derived extracellular vesicles: more than just debris. *Front Immunol.* 2018;9:1486.

116. Gavrilesco LC, Denkers EY. Apoptosis and the balance of homeostatic and pathologic response to protozoan infection. *Infect Immun*. 2003; 71(11):6109.
117. Seo MY, Rhee K. Caspase-mediated cleavage of the centrosomal proteins during apoptosis. *Cell Death Dis*. 2018; 9(5):571.
118. Xu X, Lai Y, Hua Z-C. Apoptosis and apoptotic body: disease message and therapeutic target potentials. *Biosci Rep*. 2019;39(1):BSR20180992.
119. Théry C, Witwer KW, Aikawa E, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Ves*. 2018;7(1):1535750.
120. Gu H, Chen C, Hao X, et al. Sorting protein VPS33B regulates exosomal autocrine signaling to mediate hematopoiesis and leukemogenesis. *J Clin Invest*. 2016;126(12):4537-4553.
121. Ying W, Riopel M, Bandyopadhyay G, et al. Adipose tissue macrophage-derived exosomal miRNAs can modulate in vivo and in vitro insulin sensitivity. *Cell*. 2017;171(2):372-384.
122. Tong M, Stanley JL, Chen Q, et al. Placental nano-vesicles target to specific organs and modulate vascular tone in vivo. *Hum Reprod*. 2017;32(11):2188-2198.
123. Tong M, Stanley JL, Chen Q, et al. Placental nano-vesicles target to specific organs and modulate vascular tone in vivo. *Hum Reprod*. 2017;32(11):2188-2198.
124. Al-Nedawi K, Meehan B, Micallef J, et al. Intercellular transfer of the oncogenic receptor EGFRvIII by microvesicles derived from tumour cells. *Nat Cell Biol*. 2008;10(5):619-624.
125. El Andaloussi S, Mäger I, Breakefield XO, Wood MJ, et al. Extracellular vesicles: biology and emerging therapeutic opportunities. *Nat Rev Drug Discovery*. 2013;12:347.
126. Raposo G, Stahl PD. Extracellular vesicles: a new communication paradigm? *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2019;20(9):509-510.
127. Santangelo L, Giurato G, Cicchini C, et al. The RNA-binding protein SYNCRIP is a component of the hepatocyte exosomal machinery controlling microRNA sorting. *Cell Rep*. 2016; 17(3): 799-808.
128. Villarroya-Beltri C, Gutiérrez-Vázquez C, Sánchez-Cabo F, et al. Sumoylated hnRNPA2B1 controls the sorting of miRNAs into exosomes through binding to specific motifs. *Nat Commun*. 2013;4:2980.
129. Shurtleff MJ, Temoche-Diaz MM, Karfilis KV, Ri S, Schekman R. Y-box protein 1 is required to sort microRNAs into exosomes in cells and in a cell-free reaction. *Elife*. 2016;5:e19276.
130. McKenzie AJ, Hoshino D, Hong NH, et al. KRAS-MEK Signaling Controls Ago2 Sorting into Exosomes. *Cell Rep*. 2016;15(5):978-987.
131. Moreno-Gonzalo O, Fernandez-Delgado I, Sanchez-Madrid F. Post-translational add-ons mark the path in exosomal protein sorting. *Cell Mol Life Sci*. 2018;75(1): 1-19.
132. Gauvreau M-É, Côté M-H, Bourgeois-Daigneault M-C, et al. Sorting of MHC class II molecules into exosomes through a ubiquitin-independent pathway. *Traffic*. 2009;10(10):1518-1527.

133. Stringer DK, Piper RC. A single ubiquitin is sufficient for cargo protein entry into MVBs in the absence of ESCRT ubiquitination. *J Cell Biol.* 2011;192(2): 229-242.
134. Barrès C, Blanc L, Bette-Bobillo P, et al. Galectin-5 is bound onto the surface of rat reticulocyte exosomes and modulates vesicle uptake by macrophages. *Blood.* 2010;115(3): 696-705.
135. Christianson HC, Svensson KJ, van Kuppevelt TH, Li J-P, Belting M. Cancer cell exosomes depend on cell-surface heparan sulfate proteoglycans for their internalization and functional activity. *Proc Natl Acad Sci.* 2013;110(43):17380-17385.
136. Svensson KJ, Christianson HC, Wittrup A, et al. Exosome uptake depends on ERK1/2-heat shock protein 27 signaling and lipid Raft-mediated endocytosis negatively regulated by caveolin-1. *J Biol Chem.* 2013;288(24):17713-17724.
137. Feng DU, Zhao W-L, Ye Y-Y, et al. Cellular internalization of exosomes occurs through phagocytosis. *Traffic.* 2010;11(5):675-687.
138. Costa Verdera H, Gitz-Francois JJ, Schiffelers RM, Vader P. Cellular uptake of extracellular vesicles is mediated by clathrin-independent endocytosis and macropinocytosis. *J Control Release.* 2017;266:100-108.
139. Lai CP, Mardini O, Ericsson O, et al. Dynamic Biodistribution of Extracellular Vesicles in Vivo Using a Multimodal Imaging Reporter. *ACS Nano.* 2014;8(1):483-494.
140. Hoshino A, Costa-Silva B, Shen T-L. Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis. *Nature.* 2015;527(7578):329-335.
141. Mulcahy LA, Pink RC, Carter DR. Routes and mechanisms of extracellular vesicle uptake. *J Extracell Vesicles.* 2014;3(1):24641.
142. Yu Y, Du H, Wei S, et al. Adipocyte-derived exosomal MiR-27a induces insulin resistance in skeletal muscle through repression of PPARgamma. *Theranostics.* 2018;8(8):2171- 2188.
143. S. Sarker, K. Scholz-Romero, A. Perez, S.E. Illanes, M.D. Mitchell, G.E. Rice, C. Salomon, Placenta-derived exosomes continuously increase in maternal circulation over the first trimester of pregnancy, *J. Transl. Med.* 2014;12,204.
144. M. Knight, C.W. Redman, E.A. Linton, I.L. Sargent, Shedding of syncytiotrophoblast microvilli into the maternal circulation in pre-eclamptic pregnancies, *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 1998;105(6),632–640.
145. C. Salomon, M.J. Torres, M. Kobayashi, K. Scholz-Romero, L. Sobrevia, A. Dobierzewska, S.E. Illanes, M.D. Mitchell, G.E. Rice, A gestational profile of placental exosomes in maternal plasma and their effects on endothelial cell migration, *PloS One.* 2014;9(6).
146. G. Chang, J.F. Mouillet, T. Mishima, T. Chu, E. Sadovsky, C.B. Coyne, W.T. Parks, U. Surti, Y. Sadovsky, Expression and trafficking of placental microRNAs at the feto-maternal interface, *Faseb. J.:* official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology. 2017;31(7),2760–2770.

147. S. Sheller-Miller, K. Choi, C. Choi, R. Menon, Cyclic-recombinase-reporter mouse model to determine exosome communication and function during pregnancy, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2019;221(5)502.
148. S. Sheller-Miller, J. Lei, G. Saade, C. Salomon, I. Burd, R. Menon, Feto-maternal trafficking of exosomes in murine pregnancy models, *Front. Pharmacol.* 2016;7(432).
149. C. Salomon, M. Kobayashi, K. Ashman, L. Sobrevia, M.D. Mitchell, G.E. Rice, Hypoxia-induced changes in the bioactivity of cytotrophoblast-derived exosomes, *PLoS One.* 2013;8(11).
150. G.E. Rice, K. Scholz-Romero, E. Sweeney, H. Peiris, M. Kobayashi, G. Duncombe, M.D. Mitchell, C. Salomon, The effect of glucose on the release and bioactivity of exosomes from first trimester trophoblast cells, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2015;100(10).
151. N. Jayabalan, A. Lai, S. Nair, D. Guanzon, K. Scholz-Romero, C. Palma, H. D. McIntyre, M. Lappas, C. Salomon, Quantitative proteomics by SWATH-MS suggest an association between circulating exosomes and maternal metabolic changes in gestational diabetes mellitus, *Proteomics.* 2019;19(1–2).
152. S. Nair, N. Jayabalan, D. Guanzon, C. Palma, K. Scholz-Romero, O. Elfeky, F. Zuniga, V. Ormazabal, E. Diaz, G.E. Rice, G. Duncombe, T. Jansson, H. D. McIntyre, M. Lappas, C. Salomon, Human placental exosomes in gestational diabetes mellitus carry a specific set of miRNAs associated with skeletal muscle insulin sensitivity, *Clin. Sci. (Lond.).* 2018;132(22).
153. Y.L. Cao, Y.J. Jia, B.H. Xing, D.D. Shi, X.J. Dong, Plasma microRNA-16-5p, -17-5 and -20a-5p: novel diagnostic biomarkers for gestational diabetes mellitus, *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 2017;43(6),974–981.
154. J.F. Floriano, G. Willis, F. Catapano, P.R. Lima, F. Reis, A.M.P. Barbosa, M.V. C. Rudge, C. Emanuelli, Exosomes could offer new options to combat the long-term complications inflicted by gestational diabetes mellitus, *Cells.* 2020;9(3).
155. C. Salomon, K. Scholz-Romero, S. Sarker, E. Sweeney, M. Kobayashi, P. Correa, S. Longo, G. Duncombe, M.D. Mitchell, G.E. Rice, S.E. Illanes, Gestational diabetes mellitus is associated with changes in the concentration and bioactivity of placenta-derived exosomes in maternal circulation across gestation, *Diabetes.* 2016;65(3),598–609.
156. A. Nakahara, O. Elfeky, C. Garvey, D. Guanzon, S.A. Longo, C. Salmon, Exosome profiles for normal and complicated pregnancies—a longitudinal study [30], *Obstet. Gynecol.* 2019;133.
157. M.B. Landon, C.Y. Spong, E. Thom, M.W. Carpenter, S.M. Ramin, B. Casey, R.J. Wapner, M.W. Varner, D.J. Rouse, J.M. Thorp, A. Sciscione, P. Catalano, M. Harper, G. Saade, K.Y. Lain, Y. Sorokin, A.M. Peaceman, J.E. Tolosa, G.B. Anderson, A multicenter, randomized trial of treatment for mild gestational diabetes, *N. Engl. J. Med.* 2009;361(14),1339–1348.
158. M.W. Gillman, H. Oakey, P.A. Baghurst, R.E. Volkmer, J.S. Robinson, C.A. Crowther, Effect of treatment of gestational diabetes mellitus on obesity in the next generation, *Diabetes Care.* 2010;33(5),964–968.

159. L.J. Monteiro, M. Varas-Godoy, M. Monckeberg, O. Realini, M. Hernandez, G. Rice, R. Romero, J.F. Saavedra, S.E. Illanes, A. Chaparro, Oral extracellular vesicles in early pregnancy can identify patients at risk of developing gestational diabetes mellitus, *PloS One*. 2019;14(6).
160. Boehm M., Slack F. A Developmental Timing MicroRNA and Its Target Regulate Life Span in *C. elegans*. *Science*. 2005;5756,1954–1957.
161. Sood P., Krek A., Zavolan M. et al. Cell-type-specific signature of microRNAs on target mRNA expression. *PNAS USA*. 2006;8,2746–2751.
162. Li M., Li J., Ding X. et al. MicroRNA and cancer. *AAPS J*. 2010;3,309–317.
163. Lee R.C., Feinbaum R.L., Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*. 1993; 75(5): 843–54.
164. Lee R., Feinbaum R., Ambros V. A short story of a short RNA. *Cell*. 2004;116:S89–92.
165. Lagos-Quintana M., Rauhut R., Lendeckel W. et al. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science*. 2001;294(5543):853–8.
166. Ambros V., Bartel B., Bartel D.P., Burge C.B., Carrington J.C., Chen X., Dreyfuss G., Eddy S.R., Griffiths-Jones S., Marshall M., Matzke M., Ruvkun G., Tuschl T. *RNA*. 2003;3,277–279.
167. Griffiths-Jones S., Grocock R.J., van Dongen S. et al. miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature. *Nucl. Acids Res*. 2006;34:D140–4.
168. Kozomara A., Griffiths-Jones S. miRBase: integrating microRNA annotation and deep-sequencing data. *Nucl. Acids Res*. 2011;39:D152–7.
169. Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nature Reviews Genetics*. 2010;11(9):597–610.
170. Png K. J., Halberg N., Yoshida M., Tavazoie S. F. A microRNA regulon that mediates endothelial recruitment and metastasis by cancer cells. *Nature*. 2011;481(7380):190–194.
171. Sliwinska A., Kasinska M.A., Drzewoski J. MicroRNAs and metabolic Disorders—Where are we heading? *Arch. Med. Sci*. 2017;13:885–896.
172. Arroyo J. D., Chevillet J. R., Kroh E. M., et al. Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011;108(12):5003–5008.
173. Creemers E.E., Tijssen A.J., Pinto Y.M. Circulating microRNAs: Novel biomarkers and extracellular communicators in cardiovascular disease? *Circ. Res*. 2012;110:483–495.
174. Baek D, Villén J, Shin C, Camargo FD, Gygi SP, Bartel DP. The impact of microRNAs on protein output. *Nature*. 2008;455(7209):64–71.
175. Benz F, Roy S, Trautwein C, Roderburg C, Luedde T. Circulating MicroRNAs as Biomarkers for Sepsis. *Int J MolSci*. 2016;17:78.
176. Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, et al. The Nuclear RNase III Drosha Initiates microRNA Processing. *Nature*. 2003;425:415–9.
177. Lund E, Guttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U. Nuclear Export of microRNA Precursors. *Science*. 2004;303:95–8.

178. Chen D., Wang W. Human Placental MicroRNAs and Preeclampsia. *Boil. Reprod.* 2013;88:130.
179. Poirier C., Desgagné V., Guérin R., Bouchard L. MicroRNAs in Pregnancy and Gestational Diabetes Mellitus: Emerging Role in Maternal Metabolic Regulation. *Curr. Diabetes Rep.* 2017;17:35.
180. Chim S.S.C., Shing T.K.F., Hung E.C.W., Leung T.-Y., Lau T.-K., Chiu R.W.K., Lo Y.M.D. Detection and characterization of placental microRNAs in maternal plasma. *Clin. Chem.* 2008;54:482–490.
181. Zhao C., Dong J., Jiang T., Shi Z., Yu B., Zhu Y., Chen D., Xu J., Huo R., Dai J., et al. Early Second-Trimester Serum MiRNA Profiling Predicts Gestational Diabetes Mellitus. Zhang C, editor. *PLoS ONE.* 2011;6:e23925.
182. Pheiffer C., Dias S., Rheeder P., Adam S. Decreased Expression of Circulating miR-20a-5p in South African Women with Gestational Diabetes Mellitus. *Mol. Diagn. Ther.* 2018;22:345–352.
183. Tagoma A., Alnek K., Kirss A., Uibo R., Haller-Kikkatalo K. MicroRNA profiling of second trimester maternal plasma shows upregulation of miR-195-5p in patients with gestational diabetes. *Gene.* 2018;672:137–142.
184. Wander P.L., Boyko E.J., Hevner K., Parikh V.J., Tadesse M.G., Sorensen T.K., Williams M.A., Enquobahrie D.A. Circulating early- and mid-pregnancy microRNAs and risk of gestational diabetes. *Diabetes Res. Clin. Prac.* 2017;132:1–9.
185. Zhu Y., Tian F., Li H., Zhou Y., Lu J., Ge Q. Profiling maternal plasma microRNA expression in early pregnancy to predict gestational diabetes mellitus. *Int. J. Gynecol. Obstet.* 2015;130:49–53.
186. Cao Y.-L., Jia Y.-J., Xing B.-H., Shi D.-D., Dong X.-J. Plasma microRNA-16-5p, -17-5p and -20a-5p: Novel diagnostic biomarkers for gestational diabetes mellitus. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 2017;43:974–981.
187. Ha M, Kim VN. Regulation of microRNA Biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2014;15:509–24.
188. Sebastiani G., Guarino E., Grieco G. E., et al. Circulating microRNA (miRNA) expression profiling in plasma of patients with gestational diabetes mellitus reveals upregulation of miRNA mir-330-3p. *Frontiers in Endocrinology.* 2017;8.
189. Annicotte J. S., Blanchet E., Chavey C., et al. The CDK4-pRB-E2F1 pathway controls insulin secretion. *Nature Cell Biology.* 2009;11(8):1017–1023.
190. Wander P.L., Boyko E.J., Hevner K., Parikh V.J., Tadesse M.G., Sorensen T.K., Williams M.A., Enquobahrie D.A. Circulating early- and mid-pregnancy microRNAs and risk of gestational diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2017;132:1–9.
191. Esakoff TF, Cheng YW, Sparks TN, Caughey AB. The association between birthweight 4000 g or greater and perinatal outcomes in patients with and without gestational diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol.* 2009;200(672):e1–4.
192. Langer O, Levy J, Brustman L, Anyaegbunam A, Merkatz R, Divon M. Glycemic control in gestational diabetes mellitus– how tight is tight enough: small for gestational age versus large for gestational age?. *Am J Obstet Gynecol.* 1989;161:646–53.

193. Murthy K, Karbownik K, Garfield CF, Falciglia GH, Roth J, Figlio DN. Small-for-Gestational Age Birth Confers Similar Educational Performance through Middle School. *J Pediatr.* 2019;212(159–65)e7.
194. Hales CN, Barker DJ, Clark PM, Cox LJ, Fall C, Osmond C, et al. Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. *BMJ.* 1991;303:1019–22.
195. Buchanan TA, Kjos SL, Schafer U, Peters RK, Xiang A, Byrne J, et al. Utility of fetal measurements in the management of gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 1998;21:B99–B106.
196. Bonomo M, Cetin I, Pisoni MP, Faden D, Mion E, Taricco E, et al. Flexible treatment of gestational diabetes modulated on ultrasound evaluation of intrauterine growth: a controlled randomized clinical trial. *Diabetes Metab.* 2004;30:237–44.
197. Kjos SL, Schaefer-Graf UM. Modified therapy for gestational diabetes using high-risk and low-risk fetal abdominal circumference growth to select strict versus relaxed maternal glycemic targets. *Diabetes Care.* 2007;30:S200–5.
198. Rao U, de Vries B, Ross GP, Gordon A. Fetal biometry for guiding the medical management of women with gestational diabetes mellitus for improving maternal and perinatal health. *Cochrane Database Syst Rev.* 2019;9:CD012544.
199. Sekar R, Khatun M, Barrett HL, Duncombe G. A prospective pilot study in assessing the accuracy of ultrasound estimated fetal weight prior to delivery. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2016;56:49–53.
200. Hapo Study Cooperative Research Group, Metzger BE, Lowe LP, Dyer AR, Trimble ER, Chaovarindr U, et al. Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *N Engl J Med.* 2008;358:1991–2002.
201. Metzger BE, Buchanan TA, Coustan DR, de Leiva A, Dunger DB, Hadden DR, et al. Summary and recommendations of the Fifth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care.* 2007;30:S251-60.
202. Queensland Clinical Guidelines. Gestational diabetes mellitus. In: Health Q, editor; 2015.
203. Davidson S, Susan J de Jersey, Fiona L Britten. Fetal ultrasound scans to guide management of gestational diabetes: Improved neonatal outcomes in routine clinical practice. *Diabetes Res Clin Pract.* 2021;173:108696.
204. Sovio U, Murphy HR, Smith GC. Accelerated Fetal Growth Prior to Diagnosis of Gestational Diabetes Mellitus: A Prospective Cohort Study of Nulliparous Women. *DiabetesCare.* 2016;39:982-7.
205. Horie I, Kawasaki E, Sakanaka A, et al. Efficacy of nutrition therapy for glucose intolerance in Japanese women diagnosed with gestational diabetes based on IADPSG criteria during early gestation. *Diabetes Res ClinPract.* 2015;107:400-6.
206. Feghali MN, Scifres CM. Novel therapies for diabetes mellitus in pregnancy. *BMJ.* 2018; 362:k2034.

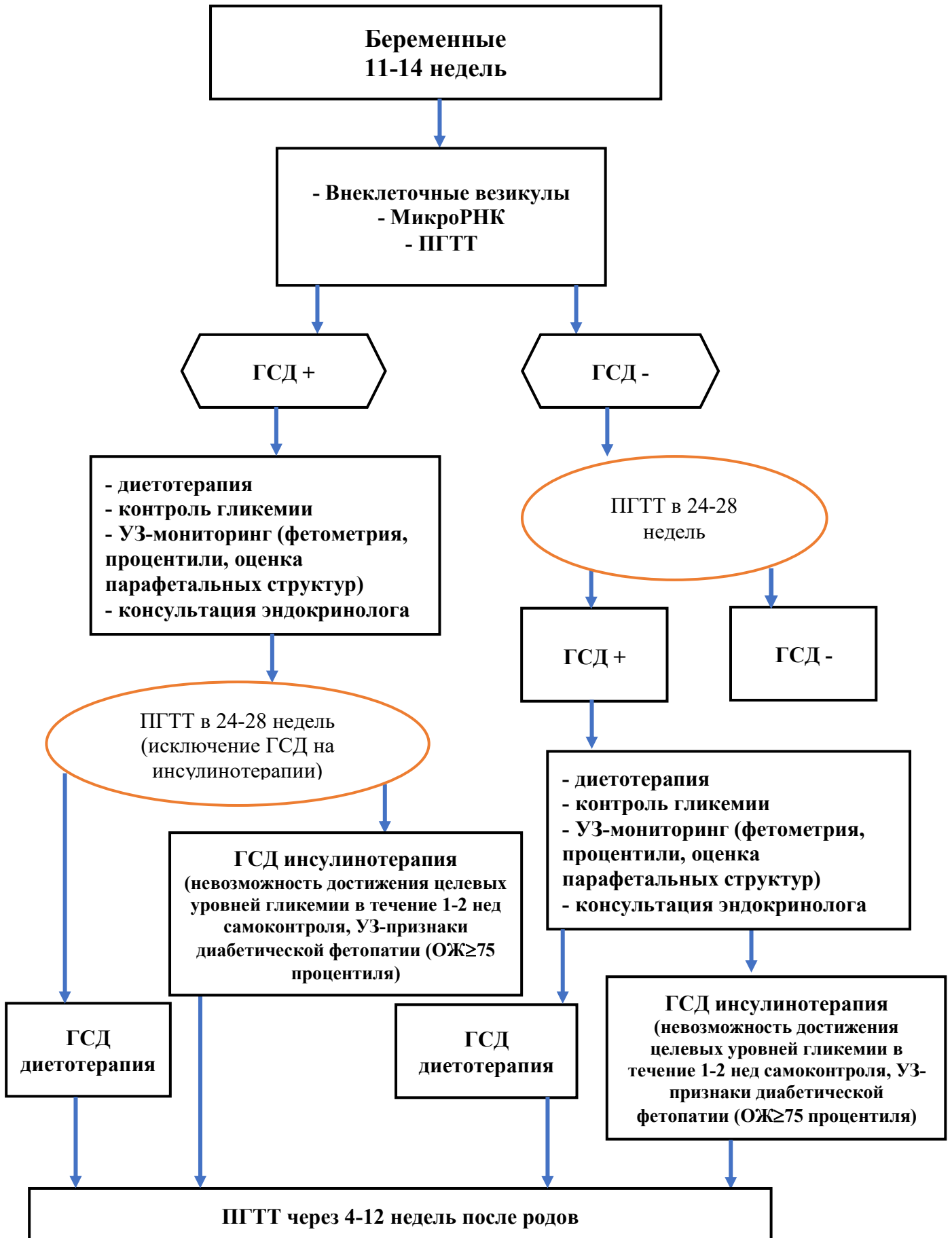
207. Behboudi-Gandevani S., Amiri M., Bidhendi Yarandi R., Ramezani Tehrani F. The impact of diagnostic criteria for gestational diabetes on its prevalence: A systematic review and meta-analysis. *Diabetol. Metab. Syndr.* 2019;11:11.
208. Laurie J.G., McIntyre H.D. A Review of the Current Status of Gestational Diabetes Mellitus in Australia-The Clinical Impact of Changing Population Demographics and Diagnostic Criteria on Prevalence. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2020;17:9387.
209. Kim S.Y., England L., Wilson H.G., Bish C., Satten G.A., Dietz P. Percentage of Gestational Diabetes Mellitus Attributable to Overweight and Obesity. *Am. J. Public Health.* 2010;100.
210. World Health Organization. Diagnostic Criteria and Classification of Hyperglycaemia First Detected in Pregnancy. World Health Organization; Geneva, Switzerland: 2013. [(accessed on 1 July 2020)]. WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee.
211. Гвоздев А.А. Королькова А.А. Факторы риска и прогнозирования гестационного сахарного диабета. *Вестник РГМУ.* 2014.№2.
212. Папышева О.В., Котайш Г.А., Лукановская О.Б., Аракелян Г.А., Савенкова И.В. Гестационный сахарный диабет - еще одна маска метаболического синдрома? *Акушерство и гинекология: новости мнения, обучение.* 2019. №3.
213. Чабанова Н.Б., Матаев С.И., Василькова Т.Н., Трошина И.А. Метаболические нарушения при адипоцитокриновом дисбалансе и гестационные осложнения. *Ожирение и метаболизм.* 2017; 14(1):9-16.
214. Sweeting AN, Ross GP, Hyett J, Molyneaux L, Tan K, Constantino M, Harding AJ, Wong J. Baseline HbA1c to identify high-risk gestational diabetes: utility in early vs standard gestational diabetes. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2017;150–156.
215. Corcoran SM, Achamallah N, Loughlin JO, Stafford P, Dicker P, Malone FD, Breathnach F. First trimester serum biomarkers to predict gestational diabetes in a high-risk cohort: striving for clinically useful thresholds. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology.* 2018;7–12.
216. Syngelaki A, Visser GHA, Krithinakis K, Wright A, Nicolaides KH. First trimester screening for gestational diabetes mellitus by maternal factors and markers of inflammation. *Metabolism: Clinical & Experimental.* 2016;131–137.
217. Castillo-Castrejon M, Powell TL. Placental nutrient transport in gestational diabetic pregnancies. *Frontiers in Endocrinology.* 2017;306.
218. Revenfeld AL, Baek R, Nielsen MH, Stensballe A, Varming K, Jorgensen M. Diagnostic and prognostic potential of extracellular vesicles in peripheral blood. *Clin Ther.* 2014;36(6):830-46.
219. W. Shuang, Y. Huixia. Analysis of the effect of risk factors at gestational diabetes mellitus. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* 2014;49(5).
220. Капустин Р.В., Аржанова О.Н., Беспалова О.Н., Пакин В.С., Киселев А.Г. Роль ожирения и избытка массы тела как фактора развития гестационного сахарного диабета: систематический обзор. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2015; (5).

221. L. Wu, L. Han, Y. Zhan, L. Cui, W. Chen, L. Ma, et al. Prevalence of gestational diabetes mellitus and associated risk factors in pregnant Chinese women: a cross-sectional study in Huangdao, Qingdao, China. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2018;27(2).
222. Додхоева М.Ф., Пирматова Д.А. Гестационный сахарный диабет: современный взгляд на актуальную проблему. *Вестник авиации.* 2018;20,4,455-461.
223. Aburezq M, AlAlban F, Alabdulrazzaq M, Badr H. Risk factors associated with gestational diabetes mellitus: The role of pregnancy-induced hypertension and physical inactivity. *Pregnancy Hypertens.* 2020;22:64-70.
224. Al-Ojaimi EH. Pregnancy outcomes after laparoscopic ovarian drilling in women with polycystic ovarian syndrome. *Saudi Med J.* 2006;27:519-25.
225. Yan Q, Qiu D, Liu X, Xing Q. The incidence of gestational diabetes mellitus among women with polycystic ovary syndrome: a meta-analysis of longitudinal studies. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2022;22:370.
226. R. Anjana, V. Sudha, N. Lakshmi Priya. Physical activity patterns and gestational diabetes outcomes - The wings project. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2016; 116.
227. A. Muche, O. Olayemi, Y. Gete. Prevalence and determinants of gestational diabetes mellitus in Africa based on the updated international diagnostic criteria: a systematic review and meta-analysis. *Arch Public Health.* 2019;77.
228. Schwartz, N. et al. The prevalence of gestational diabetes mellitus recurrence—effect of ethnicity and parity: a metaanalysis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2015; 213, 310–317.
229. Vasquez A, Jakobsson T, Ahrne S, et al. Vaginal lactobacillus flora of healthy Swedish women. *J Clin Microbiol.* 2002;40:2746–9.
230. Таджиева В.Д., Трубникова Л.И., Измайлова Ф.А. Кандидоз у беременных с сахарным диабетом: новые возможности в диагностике. *Ульяновский медико-биологический журнал.* 2013; 4.
231. Hirji I, Andersson SW, Guo Z, et al. Incidence of genital infection among patients with type 2 diabetes in the UK General Practice Research Database. *J Diabetes Complications.* 2012;26:501–5.
232. Kouhkan A, Najafi L, Malek M, Baradaran H. Gestational diabetes mellitus: Major risk factors and pregnancy-related outcomes: A cohort study. *Int J Reprod Biomed.* 2021;19(9):827–836.
233. National Collaborating Centre for Women’s and Children’s Health (UK). *Diabetes in Pregnancy: Management of Diabetes and Its Complications from Preconception to the Postnatal Period.* London: National Institute for Health and Care Excellence (UK); 2015.
234. Sweeting AN, Ross GP, Hyett J, Wong J. Gestational diabetes in the first trimester: is early testing justified? *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2017;5(8):571-573.
235. Weiss PA, Haeusler M, Kainer F, Pürstner P, Haas J. Toward universal criteria for gestational diabetes: relationships between seventy-five and one hundred gram glucose loads and between capillary and venous glucose concentrations. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;178(4):830-835.

236. Gorman N.O., Salomon L.J. Foetal biometry to assess the size and growth of the foetuses. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2018;49:3–15.
237. Chan A., Shah R. 2 Minute Medicine. Increased foetal size in gestational diabetes after week 20 of pregnancy. Physician press. 2020.
238. McKeating D.R., Clifton V.L., Hurst C.P., Fisher J.J., Bennett W.W., Perkins A.V. Elemental metabolomics for prediction of term gestational outcomes utilising 18-week maternal plasma and urine samples. *Biol Trace Elem Res.* 2021;199:26–40.
239. Witwer K.W., Théry C. Extracellular vesicles or exosomes? On primacy, precision, and popularity influencing a choice of nomenclature. *J. Extracell. Vesicles.* 2019;8(1):1648167.
240. Zhang H., Freitas D., Kim H.S., Fabijanic K., Li Z., Chen H. et al. Identification of distinct nanoparticles and subsets of extracellular vesicles by asymmetric flow field-flow fractionation. *Nat. Cell Biol.* 2018;20(3):332-43.
241. Lee S.S., Won J.H., Lim G.J., Han J., Lee J.Y., Cho K.O., Bae Y.K. A novel population of extracellular vesicles smaller than exosomes promotes cell proliferation. *Cell Commun. Signal.* 2019;17(1):95.
242. Tixeira R., Caruso S., Paone S., Baxter A.A., Atkin-Smith G.K., Hulett M.D., Poon I.K. Defining the morphologic features and products of cell disassembly during apoptosis. *Apoptosis.* 2017;22(3):475-7.
243. Surman M., Hoja-Lukowicz D., Szwed S., Kędracka-Krok S., Jankowska U., Kurtyka M. et al. An insight into the proteome of uveal melanoma-derived ectosomes reveals the presence of potentially useful biomarkers. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(15):3789.
244. Ciardiello C., Migliorino R., Leone A., Budillon A. Large extracellular vesicles: Size matters in tumor progression. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2020;51:69-74.
245. Zhang M., Jin K., Gao L., Zhang Z., Li F., Zhou F., Zhang L. Methods and technologies for exosome isolation and characterization. *Small Methods.* 2018;2:1800021.
246. Zaborowski M.P., Balaj L., Breakefield X.O., Lai C.P. Extracellular vesicles: composition, biological relevance, and methods of study. *Bioscience.* 2015;65(8):783-97.
247. Salomon C., Scholz-Romero K., Sarker S., Sweeney E., Kobayashi M., Correa P. et al. Gestational diabetes mellitus associated with changes in the concentration and bioactivity of placenta-derived exosomes in maternal circulation across gestation. *Diabetes.* 2016;65(3):598-609.
248. Yuan F., Li Y.M., Wang Z. Preserving extracellular vesicles for biomedical applications: consideration of storage stability before and after isolation. *Drug Deliv.* 2021;28(1):1501-9.
249. Arias M., Monteiro L.J., Acuña-Gallardo S., Varas-Godoy M., Rice G.E., Monckeberg M. et al. Extracellular vesicle concentration in maternal plasma as an early marker of gestational diabetes. *Rev. Med. Chil.* 2019;147(12):1503-9.
250. Nakahara A., Elfeky O., Garvey C., Guanzon D., Longo S.A., Salmon C. Exosome profiles for normal and complicated pregnancies – a longitudinal study. *Obstet. Gynecol.* 2019;133:162.

251. Kuwabara Y., Ono K., Horie T., Nishi H., Nagao K., Kinoshita M., Watanabe S. Increased microRNA-1 and microRNA-133a levels in serum of patients with cardiovascular disease indicate myocardial damage. *Circ. Cardiovasc. Genet.* 2011;4(4): 446-54.
252. Zhao Z, Moley KH, Gronowski AM. Diagnostic potential for miRNAs as biomarkers for pregnancy-specific diseases. *Clin Biochem.* 2013;46(10–11):953–60.
253. Filardi T., Catanzaro G., Mardente S., Zicari A., Santangelo C., Lenzi A., Morano S., Ferretti E. Non-Coding RNA: Role in Gestational Diabetes Pathophysiology and Complications. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21:4020.
254. Zhu Y., Tian F., Li H., Zhou Y., Lu J., Ge Q. Profiling maternal plasma microRNA expression in early pregnancy to predict gestational diabetes mellitus. *Int. J. Gynecol. Obs.* 2015;130:49–53.
255. Carreras-Badosa G, Bonmatí A, Ortega F, Mercader J. Altered Circulating miRNA Expression Profile in Pregestational and Gestational Obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(11).
256. Hromadnikova I, Kotlabova K, Hympanova L, Krofta L. Cardiovascular and cerebrovascular disease associated microRNAs are dysregulated in placental tissues affected with gestational hypertension, preeclampsia and intrauterine growth restriction. *PLoS One.* 2015;10(9).
257. Simmons D, Hague WM, Teede HJ, et al. Hyperglycaemia in early pregnancy: the Treatment of Booking Gestational diabetes Mellitus (TOBOGM) study. A randomised controlled trial. *Med J Aust.* 2018;209(9):405-406.
258. Fitria N, van Asselt ADI, Postma MJ. Cost-effectiveness of controlling gestational diabetes mellitus: A systematic review. *Eur J Health Econ.* 2019;20:407-417.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1: АЛГОРИТМ ВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОК С ГСД



ПРИЛОЖЕНИЕ 2: АНКЕТА

1. Ваш возраст? _____ лет
2. Ваш вес и рост до беременности? _____ кг, _____ см
3. Страдают ли ваши родственники сахарным диабетом 2 типа?
 - Да
 - Нет
4. Страдали ли Вы гестационным сахарным диабетом в предыдущую беременность?
 - Да
 - Нет
5. Вес ребенка при рождении в предыдущую беременность? _____ г
6. Курите ли Вы?
 - Да
 - Нет
7. Сколько Вы прибавили в весе за беременность? _____ кг