

На правах рукописи

Снеткова

Нина Викторовна

**«Клинические и молекулярно-биологические детерминанты
формирования гестационного сахарного диабета»**

Специальность: 14.01.01-Акушерство и гинекология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва, 2021

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

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор
кандидат медицинских наук

Ходжаева Зульфия Сагдуллаевна
Донников Андрей Евгеньевич

Официальные оппоненты:

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

Леваков Сергей Александрович – доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «09» марта 2021г. в 13.00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.125.01 на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» по адресу 117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации http://science.ncagp.ru/upfiles/pdf/Snetkova%20N.V.-dissertation_2020_2.pdf

Автореферат разослан «__» _____ 202_ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Калинина Елена Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Гипергликемия во время беременности – отмечается в 14% случаев среди европейской популяции женщин, в 16% она связана с различными видами диабета, а в 84% всех случаев - ассоциирована с гестационным сахарным диабетом (ГСД) (Hod et al. 2015). Согласно мировым данным, распространённость ГСД колеблется от 2% до 37% (Kharroubi et al. 2015; Петрухин В.А. и соавт. 2012).

В настоящее время ГСД остается одной из самых социально и демографически значимых акушерских проблем. Последствия ГСД оказывают влияние на состояние здоровья и качества последующей жизни женщины и ребенка (Mackeen et al. 2017). Рецидив ГСД возникает в 20-50% случаях при последующей беременности, а у 25-50% женщин, перенесших ГСД, через 5-10 лет после родов развивается сахарный диабет 2-го типа (Бурумкулова Ф.Ф. и соавт. 2011).

Проблема прогнозирования и ранней диагностики ГСД, решение которой направлено на предотвращение осложнений ГСД, находится в центре внимания исследователей, особое место при этом занимают вопросы возможной генетической предрасположенности не только к развитию ГСД, но также и к назначению инсулинотерапии (Y.Ito et al.2016).

С другой стороны, в центре внимания исследователей находится и проблема перинатального программирования в контексте неблагоприятного воздействия гипергликемии при ГСД на развитие плода, поскольку макросомия плода является наиболее распространенным осложнением данного заболевания, и, в случае несвоевременной диагностики и лечения, встречается у 15-45% новорожденных (Ornoy A. et al. 2015).

В мировой литературе в последнее десятилетие активно изучается экспрессия плацентарных микроРНК, ассоциированных с ГСД и ответственных за формирование массо/ростовых показателей плода (Qinyu Ge et al. 2014; Ji-Tai Zhang et al. 2016; Li J.A. et al. 2015). Кроме того, появляется все больше доказательств активного участия микроРНК в патогенезе ГСД (Hua Jiang, et al.2015; Zhao et al. 2018;).

В связи с выше изложенным ГСД является актуальной и одной из часто встречающихся экстрагенитальных патологий беременности, и представляет серьезную как медицинскую, так и социальную проблему, увеличивая не только частоту нежелательных исходов беременности как для матери, так для плода, но и влияя на последующее качество их жизни.

Степень разработанности темы исследования

В настоящее время особого внимания заслуживает интерес к изучению эпигенетических основ ГСД. Данную патологию можно рассматривать как типичное мультифакторное заболевание в связи с патогенетическим сходством ГСД и СД 2-го типа, в развитии которого принимают участие многочисленные генетические и внешние факторы среды. Так, исследования генетических полиморфизмов многочисленны, но до сегодняшнего времени нет четкости в предикции данной патологии по этим генетическим субстратам. Имеются данные, что ГСД может быть результатом функционально неполноценных полиморфизмов не в одном, а в нескольких разных негомологичных генах. Поиск таких неблагоприятных сочетаний аллелей генов предрасположенности является одним из перспективных направлений в исследовании генетики ГСД.

Роль микроРНК как возможных предикторов или диагностических маркеров макросомии плода при ГСД не до конца изучена, публикации немногочисленны и поэтому заслуживает более глубокого исследования с целью определения уровня экспрессии микроРНК, которые могут стать ключевыми биомаркерами при формировании макросомии плода, а также при разработке панели маркеров и предикторов развития данного осложнения беременности.

Перечисленные направления исследования позволят не только уточнить этиологию ГСД и механизмы формирования макросомии плода, но и предложить новые предикторы как ГСД, так и его осложнений.

Цель исследования:

Оптимизация тактики ведения беременных с ГСД на основании клинических и молекулярно-биологических исследований для улучшения акушерских и неонатальных исходов и последующего качества здоровья.

Задачи исследования:

1. Изучить клинико-anamnestические характеристики пациенток с ГСД.
2. Изучить полиморфизмы кандидатных генов при ГСД.
3. Изучить изменения микроРНК в плазме крови у беременных с ГСД
4. Изучить возможную роль микроРНК и полиморфизмов кандидатных генов в формировании макросомии плода.
5. Провести анализ акушерских и неонатальных исходов в зависимости от методов лечения ГСД.
6. Представить катанез и состояние углеводного обмена у пациенток через 6-12 недель после родоразрешения.
7. На основании полученных данных разработать алгоритм ведения беременных с ГСД

и дальнейшего наблюдения для профилактики ассоциированных осложнений.

Научная новизна

На основании проведенного исследования уточнены клиничко-анамнестические факторы развития ГСД.

Получены убедительные данные об ассоциации полиморфного локуса rs4253778 гена PPRA в качестве предиктора развития ГСД. Впервые, выявлена взаимосвязь между полиморфным локусом rs1800849 гена UCP3 и локусом rs3798220 гена LPA, и последующим назначением инсулинотерапии у пациенток с ГСД, вследствие нестабильных цифр гипергликемии.

Найдена взаимосвязь между генотипом G/G полиморфного локуса rs7799039 гена LEP и аллелью G полиморфного локуса rs1137100 гена LEPR в качестве фактора риска формирования крупных плодов. В свою очередь, генотип A/A полиморфного локуса rs1137100 гена LEPR и аллель A полиморфного локуса rs7799039 гена LEP являются фактором риска формирования маловесных плодов при инсулинотерапии ГСД.

Впервые описана ассоциация генотипа G/G полиморфного локуса rs1137101 гена LEPR и полиморфного локуса rs4253778 гена PPRA с риском развития гипергликемии после родоразрешения у женщин, перенесенных ГСД.

Выявлены и проанализированы статистически значимые корреляции уровня экспрессии микроРНК с показателями глюкозы крови, а также массо/ростовыми параметрами плодов и новорожденных.

Впервые выявлена ассоциация уровня экспрессии miR-30a-3p, miR-502-5p и miR-143-3p с ГСД.

Доказана прогностическая значимость уровня экспрессии miR-30a-3p в качестве биомаркера макросомии плода.

Теоретическая и практическая значимость

Молекулярно-генетическое обследование женщин с факторами риска развития ГСД на полиморфизм генов: PPRA, LEPR, UCP3, LPA позволит сформировать группу пациенток для проведения тщательного мониторинга. А диагностика полиморфных генов LEP, LEPR послужит прогностическим маркером формирования макросомного плода.

Динамика экспрессии микроРНК, как маркеров макросомии плода, позволит спрогнозировать вероятность развития данного осложнения до появления ультразвуковых маркеров макросомии плода и оптимизировать тактику ведения пациенток с ГСД.

Доказанные предикторы, ответственные за формирования ГСД, могут быть использованы в практическом здравоохранении для своевременной диагностики и

оптимальной тактики ведения пациенток с ГСД, что будет способствовать снижению акушерских осложнений и улучшению перинатальных исходов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Факторами риска развития ГСД являются: возраст старше 35 лет, повышенный ИМТ и патологическая прибавка массы тела, паритет, бесплодие в анамнезе, миома матки, отягощенный семейный анамнез по диабету, сердечно-сосудистым заболеваниям, а также осложненное угрозой прерывания течение беременности, потребовавшее назначения гормональной терапии развитие гипертензивных расстройств с преобладанием ГАГ.
2. При проведении ПГТТ гипергликемия у беременных с ГСД на инсулинотерапии отмечается во всех трех точках, в то время как у пациенток с ГСД и диетотерапией - лишь в третьей точке (спустя два часа). Носительство аллеля С локуса rs1800849 гена UCP3 и аллеля Т локуса rs3798220 гена LPA, ассоциированных с нестабильной гипергликемией и нарушением гомеостаза глюкозы, является предрасполагающим фактором к назначению инсулинотерапии. Инсулинотерапия приводит к снижению ПМП по данным УЗ-фетометрии и может явиться фактором, сдерживающим прирост массы плода.
3. Молекулярно-генетическими детерминантами формирования крупного плода являются генотип G/G rs7799039 гена LEP и аллель G rs1137100 гена LEPR, ответственных за регуляцию чувства голода, обмена жировой ткани и регуляцию энергии. В то время как генотип A/A rs1137100 гена LEPR и аллель A rs7799039 гена LEP ассоциированы с формированием маловесного плода. Прогностическим индикатором формирования макросомии плода и инструментом мониторинга эффективности терапии является динамика miR-30a-3p в процессе беременности.
4. У 12,7% женщин, имевших ГСД, спустя 6 – 12 недель после родоразрешения диагностирована гипергликемия по данным ПГТТ, что может свидетельствовать об инсулинорезистентности и высоком риске развития СД 2-го типа. Генотип G/G rs4253778 гена PPRA и rs1137101 гена LEPR являются предикторами развития гипергликемии у женщин после родов.

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 14.01.01 – «акушерство и гинекология». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 1, 2 и 4 паспорта акушерства и гинекологии.

Апробация результатов

Основные результаты исследования были представлены на XX Международном симпозиуме DIP (Флоренция, 2019), XIX региональном научном форуме «Мать и дитя» (Москва, 2019), XXI Всероссийском научном форуме «Мать и дитя» (Москва, 2020 г.).

Работа обсуждена на межклинической конференции (13.08.2020) и заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (21.09.2020, протокол №29).

Внедрение результатов исследования в практику

Разработанная на основании полученных результатов тактика прогнозирования и диагностики ГСД используется в практической деятельности отделений ФГБУ "НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова" Минздрава России. Результаты работы представляются клиническим ординаторам и аспирантам в рамках лекционного материала и практических занятий. По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, в том числе 3 статьи - в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, глав собственного исследования, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложения. Работа представлена на 131 странице, иллюстрирована 16 рисунками и 32 таблицами. Библиографический указатель включает 14 работ на русском и 127 - на английском языках.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

В исследование было включено 220 беременных, подписавших добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Все пациентки были разделены на 2 группы и 2 подгруппы. Диагноз ГСД был поставлен 118 пациенткам. Контрольную группу составили 102 женщины с неосложненным течением беременности. Основная группа был разделена на две подгруппы в зависимости от вида терапии: подгруппа IA – 94 беременные

на диетотерапии и подгруппа IV – 24 беременные, которым была назначена инсулиноterapia вследствие неэффективности диетотерапии.

Обследование беременных женщин было проведено в соответствии с Приказом Министерства здравоохранения РФ от 1 ноября 2012 г. N 572н "Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)»".

Диагноз ГСД, согласно международному Консенсусу и в соответствии с клиническими рекомендациями 2016 года, ставился на основании хотя бы одного значения уровня глюкозы венозной плазмы из трех, которое было равным или выше порогового при проведении ПГТТ (пероральный глюкозотолерантный тест). ПГТТ проводился в 24-28 недель беременности и через 6-12 недель после родоразрешения.

При постановке диагноза ГСД всем пациенткам рекомендовалась диетотерапия с полным исключением легкоусвояемых углеводов и ограничением жиров. Производилось контролирование значений глюкозы крови (целевые значения менее 5,1 ммоль/л натощак и 7 ммоль/л через 1-1,5 часа после еды). В свою очередь, инсулиноterapia назначалась пациенткам при невозможности достижения целевых показателей уровня глюкозы крови (два и более нецелевых значений гликемии при соблюдении рекомендаций по диетотерапии) в течение 1–2 недель самоконтроля, а также при наличии признаков диабетической фетопатии по данным экспертного УЗ-исследования.

Критерии включения для всех участников исследования:

- Возраст пациенток 18 - 40 лет;
- Информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии включения в I группу исследования:

- Одноплодная, спонтанно наступившая беременность;
- ГСД, подтвержденный при проведении ПГТТ.

Критерии включения в II группу исследования:

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

Критерии невключения:

- многоплодная беременность;
- наступление беременности в результате применения ВРТ;
- тяжелая соматическая патология у беременной;
- предлежание плаценты;
- метаболический синдром;

- преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты;
- пороки развития матки;
- пациентки на иммуносупрессивной терапии (в связи с трансплантированными органами или активацией аутоиммунного заболевания).

Критерии исключения:

- хромосомные аномалии у плода;
- врожденные пороки развития плода;
- антенатальная гибель плода;
- отказ от участия в исследовании.

Всем пациенткам было проведено изучение клинико-anamнестических данных, особенностей течения, исходов беременностей и способа родоразрешения, изучение состояния плодов и новорожденных. Наряду со стандартными методами в работе применялись методы молекулярно-генетического исследования полиморфных локусов методом ПЦР с анализом кривых плавления «примыкающих проб», а также метод ПЦР в реальном времени для изучения экспрессии микроРНК плазмы крови.

Результаты обследования вносились в специально разработанную тематическую карту и в электронные таблицы MS Excel. Статистическая обработка данных выполнялась на индивидуальном компьютере с помощью электронных таблиц «Microsoft Excel» и пакета статистической программы IBM SPSS Statistics v22 (США).

Результаты собственных исследований и их обсуждение

Средний возраст пациенток, включенных в исследование, составил 31,8(4,56) лет. Пациентки в диапазоне возраста 35-39 лет статистически значимо чаще встречались в группе с ГСД (45,6%): в подгруппе на диетотерапии - 37,2% и на инсулинотерапии 29,2%, по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$). ИМТ пациенток с ГСД был значимо выше, по сравнению с контрольной группой ($22,11 \pm 0,27$ против $20,89 \pm 0,26$ ($p = 0,002$)), а наибольшие показатели отмечались в IB подгруппе - $22,58 \pm 0,54$ ($p = 0,003$). В свою очередь, избыточная масса тела наблюдалась только в группе с ГСД, и при внутригрупповом анализе данный показатель был равнозначен - 15,9% и 16,6% ($p < 0,001$). Патологическая прибавка массы тела во время беременности была отмечена только в IA подгруппе - 4,25%.

Наследственная отягощенность по СД 1-го и 2-го типов статистически значимо чаще встречалась у беременных с ГСД - 5,1% и 30,5% ($p = 0,004$), а в IB подгруппе данный показатель был - 12,5% и 50%, соответственно ($p = 0,004$ и $p < 0,0001$). Стоит отметить, что артериальная гипертензия в 43,2% ($p = 0,0001$), инфаркты миокарда 9,3% ($p = 0,007$) и инсульты 10,2% ($p = 0,034$) значимо чаще наблюдались у беременных с ГСД.

Распространенность заболеваний желудочно-кишечного тракта была статистически выше в IB подгруппе – 20,8%, по сравнению с IA подгруппой – 9,3% ($p=0,030$), а также в этой подгруппе отмечались значимо чаще заболевания сердечно-сосудистой системы – 16,7%, по сравнению с контрольной группой ($p=0,039$).

Возраст наступления менархе у пациенток из группы ГСД был несколько раньше и составил $13,1 \pm 1,16$ лет в сравнении с контрольной группой $13,3 \pm 1,17$ лет ($p=0,021$).

Частота миомы матки достоверно выше в группе с ГСД - 11,9%, по сравнению с группой контроля – 2% ($p=0,001$). При внутригрупповом анализе данная нозология чаще отмечалась в IA подгруппе – 13,8% ($p=0,0001$). Бесплодие в анамнезе и СПКЯ значимо чаще отмечались среди беременных на инсулинотерапии - 12,5 и 8,3% ($p=0,041$) против 5,3% и 3,2% ($p=0,034$), соответственно.

Искусственные аборты в 2 раза чаще отмечались в группе ГСД - 20,3% по сравнению с контрольной группой - 10,8% ($p=0,050$). Интересно отметить, что частота самопроизвольного выкидыша (4,2%), внематочной (0%) и неразвивающейся беременности (12,6%) в анамнезе была статистически значимо ниже среди беременных IB подгруппы. Частота ГСД в анамнезе оказалась статистически выше у пациенток с ГСД - 5,9% ($p=0,013$), а при внутригрупповом анализе частота таких пациенток выше в подгруппе инсулинотерапии - 20,8% ($p=0,0001$) в сравнении с группой контроля, где данная патология не отмечалась.

Анализ течения беременности показал, что уже начиная с I триместра у пациенток с ГСД беременность осложнялась угрозой прерывания - 20,3%, в сравнении с контрольной группой (4,9%) ($p=0,001$). Соответственно, гормональная терапия значимо чаще назначалась в I группе - 18,6%, по сравнению с II группой - 5,9% ($p=0,005$). А при внутригрупповом сравнении с контрольной группой этот признак также был выше в подгруппах IA и IB – 18,1% и 20,8% ($p=0,008$ и $p=0,020$). Течение II триместра гестации также отмечалось манифестацией угрозы прерывания беременности - 23,4%, в сравнении с группой контроля – 4,9% ($p=0,0001$).

Результаты проведенного ПГТТ, представленные в таблице №1, показали, что у пациенток в IB подгруппе уровень гликемии имел более высокие цифры во всех трех точках ПГТТ, по сравнению с IA подгруппой, где значимо выше имел место только третий показатель уровня глюкозы крови, который составил $8,63 \pm 0,26$ ($p=0,001$). Инсулинотерапия назначалась врачами-эндокринологами, при этом срок беременности на момент начала лечения в среднем составил $29,7 \pm 0,6$ недель. Следует отметить, что инсулинотерапия была назначена 24 из 82 беременных из группы с ГСД (29,3%), причем в подавляющем большинстве случаев ($n=20$) она назначалась пациенткам с повышенным уровнем

«тощаковой» глюкозы и неэффективностью диетотерапии (83,3%), двум - в связи с гипергликемией во второй точке (8,3%), одной - в третьей точке (4,15%), одной - во второй и третьей точках (4,15%).

Таблица № 1

Результаты перорального глюкозо-толерантного теста (ПГТТ)

Показатели:	I группа (n=118)	IA подгруппа (n=94)	IB подгруппа (n=24)	II группа (n=102)	P-value
1 точка – уровень гликемии натощак	5,11±0,05 (N=82),	5,04±0,09 (N=62)	5,25±0,08* (N=20)	4,52±0,03	<0,001
2 точка – уровень гликемии через 1 час	9,85±0,3 (N=21)	9,68±0,4 (N=18)	10,54±0,52* (N=2)	7,02±0,4	<0,001
3 точка – через 2 часа	8,65±0,23 (N=23)	8,63±0,26* (N=21)	8,86±0,39 (N=1)	6,02±0,12	<0,001

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение; ANOVA

*статистически значимые различия

Анализе течения III триместра беременности показал, что угрожающие преждевременные роды, также как и в первом и втором триместрах беременности (с 22^x недель), значимо чаще встречаются в I группе - 11,9%, в сравнении со II группой – 1% (p=0,001). Гипертензивные расстройства беременных, а именно ГАГ наблюдалась только среди 5 беременных IA подгруппы - 5,3% (p=0,036). ХАГ наблюдалась у 8,3% пациенток на инсулинотерапии и у 2,1% пациенток на диетотерапии (p=0,004). В свою очередь, в группе с ГСД статистически значимых различий в частоте умеренной ПЭ (7,6%) и ПЭ на фоне ХАГ (3,4%) получено не было. Тяжелая ПЭ не была зарегистрирована в анализируемых группах беременных. Макросомия плода наблюдалась у 5 беременных с ГСД на диетотерапии – 5,3% (p=0,019) и у одной пациентки (4,24%), находящейся на инсулинотерапии (p=0,043) (предполагаемая масса плода варьировала от 4003,0 до 4614,0 грамм и соответствовала 95 перцентилю по данным УЗ-фетометрии). Фетопатия имела место у одной пациентки с ГСД, находившейся на инсулинотерапии (4.2%), она проявлялась двухконтурностью головки плода, утолщением подкожно-жирового слоя, выраженным многоводием, невыраженной кардиомегалией (p=0,039).

Динамика роста плодов по УЗИ параметрам, представленная на рисунке №1, выявила, что при сравнении показателей на 18-ой неделе гестации в группе ГСД масса плода уже была незначительно выше (346±90 грамм) в сравнении с контрольной группой

(293±70 грамм). А с 22-ой недели гестации отмечался значительный прирост массы плода в исследуемой группе - 894±131 грамм (45,7±20,3 перцентиль) (p=0,001).

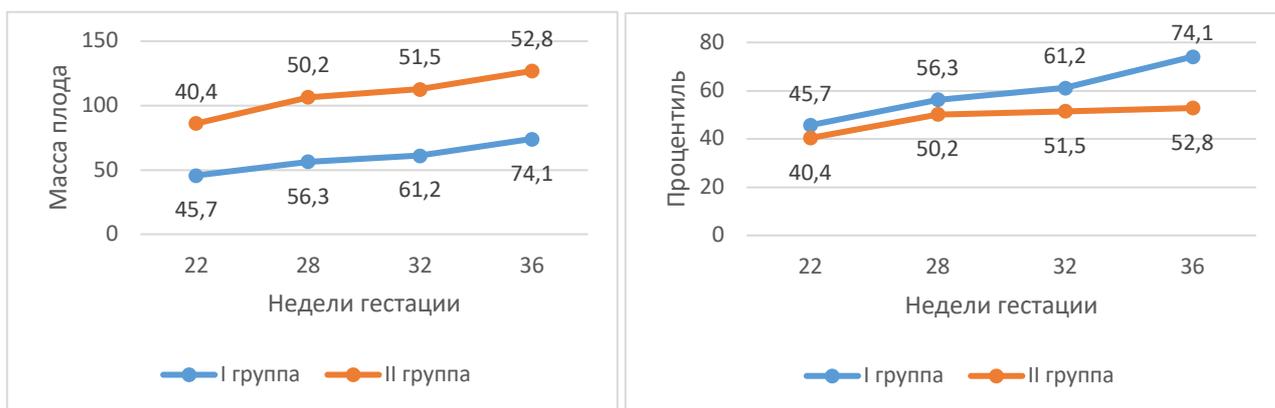


Рис. 1 Динамика роста плодов (по предполагаемой массе и перцентильным значениям) в основной и контрольной группах

Зависимость динамики роста от метода лечения ГСД показала, что подгруппа на диетотерапии отличалась значимым приростом массы тела, и, соответственно, перцентильных значений, в отличие от IB подгруппы, в которой отмечалось снижение темпов роста с 28 недели гестации, а масса тела плода составила 1009.0±13.0 грамм (45±12,6 перцентиль) в сравнении с подгруппой на диетотерапии – 1685.0±174.0 грамм (62±15,8 перцентиль)(p=0,013). Та же тенденция отмечалась и в 32 недели беременности: 2234.0±312.0грамм (61,2±19,7 перцентиль) и 1850.0±281.0 грамм (51,5±21,6 перцентиль), соответственно) (p=0,021). А в 36 недель беременности в подгруппе на диетотерапии масса плода была значимо выше – 3671.0±275.0 грамм (87±22,3 перцентиль), в сравнении с подгруппой инсулинотерапии – 2550.0±294.0 грамм (50±16,7 перцентиль).

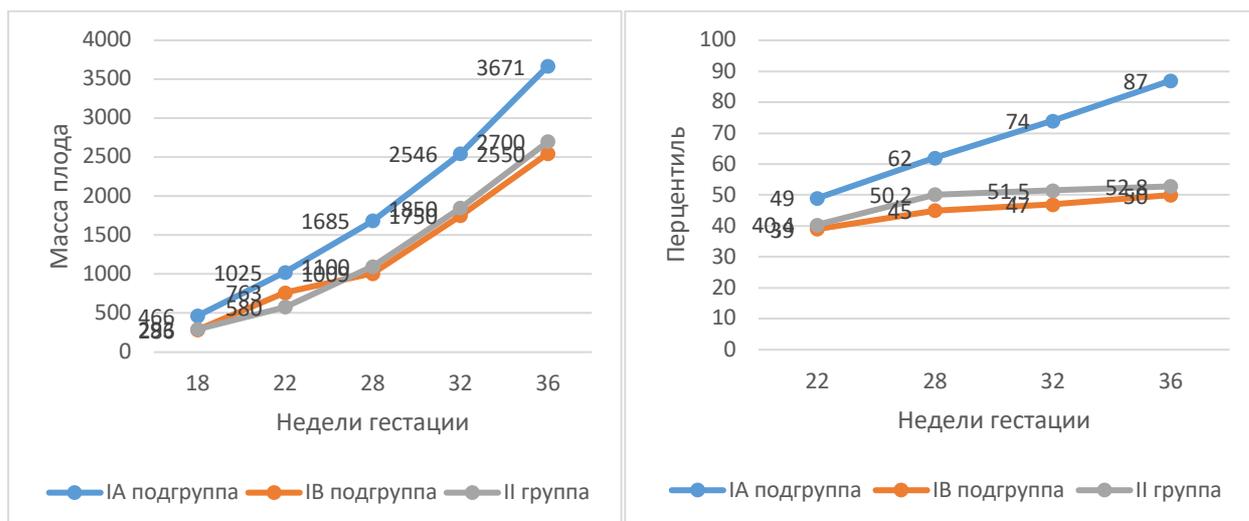


Рис. 2 Динамика роста плодов (по предполагаемой массе и перцентильным значениям) в зависимости от метода терапии ГСД в подгруппах на диетотерапии и инсулинотерапии в сравнении с контрольной группой.

Средний срок родоразрешения в I группе составил $38,6 \pm 1,8$ недель, в IA подгруппе $39,1 \pm 1,4$ недель, в IB подгруппе $37,2 \pm 1,7$ недель, и наконец, в контрольной группе $39 \pm 1,3$ недель. Из группы с ГСД 7 (5,9%) пациенток были родоразрешены преждевременно в сроке 34-36,6 недель, 5 (5,3%) из числа которых были на диетотерапии и 2 (8,3%) - на инсулинотерапии.

Большая часть родоразрешений в группе с ГСД произошла через естественные родовые пути - 58,5%, а в II группе этот показатель составил 75,5%. Соответственно, частота планового оперативного родоразрешения была наибольшей в группе с ГСД - 22%, а в IB подгруппе - 33,3% ($p=0,045$) и в II группе - 10,8%. Частота экстренного родоразрешения оперативным путем в группе с ГСД составила 19,5%, в IA - 21,3% ($p=0,012$) и IB подгруппах - 12,5%, в сравнении с группой контроля - 13,7% ($p=0,013$). Значимыми показателями к оперативному родоразрешению явились крупный плод в IA подгруппе и фетопатия плода в IB подгруппе, которые встречались только в группе ГСД - 5,3% и 4,2% ($p=0,001$). Частота экстренного родоразрешения оперативным путем в группе с ГСД была 19,5%, в сравнении с группой контроля - 13,7% ($p=0,013$). А при внутригрупповом анализе в подгруппе IA этот показатель равен 21,3%, а в группе IB 12,5% ($p=0,012$). Основным показателем явилась - острая гипоксия плода в подгруппе на диетотерапии - 8,5%, в сравнении с группой контроля - 2% ($p=0,038$).

Анализ неонатальных исходов показал, что большая масса тела при рождении отмечается в группе с ГСД - $3341,1 \pm 447,0$ г, в сравнении с группой контроля - $3187,0 \pm 420,0$ г, а в IB подгруппе этот показатель был намного ниже - $3073,6 \pm 519$ грамм, но это не было статистически значимо.

Частота рождения детей с диагнозом «крупный к сроку гестации» была значимо выше в IA подгруппе и составила 11,8% в сравнении с детьми, рожденными от матерей из группы контроля - 2,04% ($p=0,044$). У этих новорожденных в 6,38% случаев был диагностирован перелом ключицы ($p=0,042$), и в 5,3% кефалогематома ($p=0,036$). В свою очередь, в IB подгруппе в 33% рождались маловесные плоды ($p<0,001$), у которых в раннем неонатальном периоде были диагностированы в 8,3% кисты сосудистых сплетений ($p=0,004$). Соответственно, выписка новорожденных у пациенток с перенесенным ГСД происходила позже - на $4,44 \pm 5,04$ сутки, в сравнении с контрольной группой $3,5 \pm 1,2$ сутки ($p=0,001$).

Новорожденным от матерей с ГСД был выполнен мониторинг глюкозы крови на 2-е и 14-е часы жизни. Так средние значения глюкозы крови не превышали нормативных значений и составили через 2 часа: $4,395 \pm 1,04$ ммоль/л, а через 14 часов - $3,291 \pm 0,40$ ммоль/л.

Оценка послеродового периода заключалась в анализе гликемического профиля женщин. Среднее значение уровня гликемии у женщин основной группы на 3-и сутки после родоразрешения было - $4,3 \pm 0,48$ ммоль/л.

Выписка пациенток из стационара также имела свои особенности, так в I группе она составила $4,69 \pm 1,6$ дней, что было значимо больше по сравнению с контрольной группой ($p=0,014$). Наибольшая продолжительность койко-дней в стационаре наблюдалась в IV подгруппе и составила - $4,81 \pm 1,2$ дней ($p=0,047$).

Через 6-12 недель после родоразрешения пациенткам с перенесенным ГСД был проведен ПГТТ, по результатам которого у 15 пациенток (12,7%) из 118 (10 пациенток из группы на диетотерапии и 5 пациенток из группы на инсулинотерапии) было обнаружено превышение нормативных значений уровня глюкозы венозной плазмы крови, что свидетельствует о персистирующей инсулинорезистентности, которая является фактором риска развития СД 2-го типа. При изучении влияния последствий ГСД на здоровье женщин, у 4,2% пациенток отмечалось прогрессирование ожирения, а у 8,47% отмечалась артериальная гипертензия, при внутригрупповом анализе данные показатели были сопоставимы между подгруппами ($p=0,004$). Частота заболеваний ССС в 5,1% случаев встречалась у пациенток с ГСД ($p=0,021$).

Молекулярно-генетическое исследование

В результате проведения генетического исследования было выявлено, что генотипическая частота аллеля С полиморфного локуса *rs4253778* гена *PPRA* была погранично значима выше у пациенток с нормально протекающей беременностью по сравнению с пациентками с ГСД (20% против 14%, $p=0,066$). В свою очередь, частота генотипа С/С в 1 группе составила 2 (1,7%), а во 2 группе 1 (1%). Частота генотипа G/C составила 28 (23,7%), и 39 (38,2%) соответственно. А частота генотипа G/G в группе с ГСД была 88 (74,6%), и 62 (60,8%) в группе контроля. Таким образом, согласно аутосомно-доминантной модели наследования, наличие аллеля С (25,4%) в генотипе является протективным фактором риска развития ГСД (OR=0.5 (0.3-0.9), $p=0,028$).

Генотипическая частота аллеля С полиморфного локуса *rs3798220* гена *LPA* была статистически значима выше у пациенток на инсулинотерапии, в сравнении с пациентками на диетотерапии (6% против 1%, $p=0,03$). Частота генотипа T/C составила 4 (11,8%) в 1А подгруппе и 2 (2,4%) в 1В подгруппе. Частота генотипа T/T составила 30 (88,2%) и 81 (97,6%) соответственно. Согласно аутосомно-доминантной модели наследования наличие аллеля С (2,4%) в генотипе является протективным фактором риска возникновения нестабильных цифр гликемии, что в последующем потребует назначения инсулинотерапии (OR=0.19 (0,03-1,06), $p=0,037$).

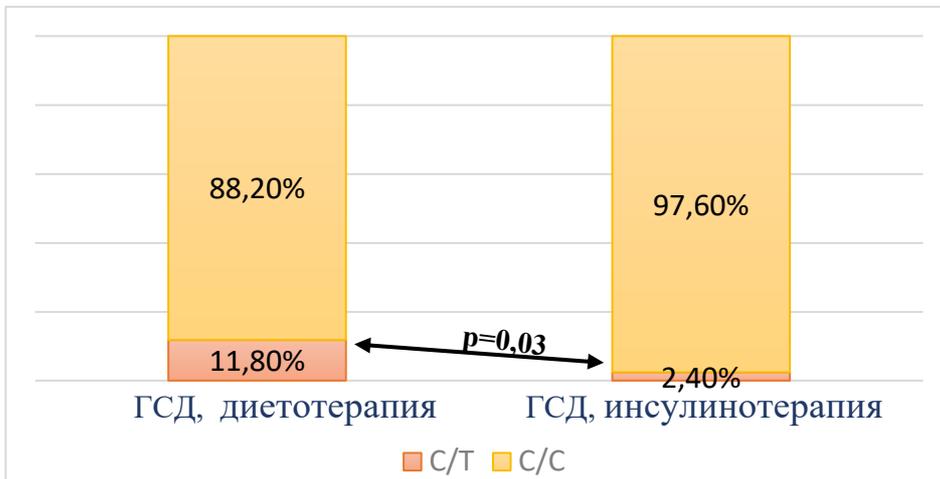


Рис.3 Распределение генотипов гена LPA (rs3798220)

В свою очередь, в IB подгруппе, генотипическая частота аллеля Т полиморфного локуса *rs1800849* гена *UCP3* была значимо выше (33% против 21%, $p=0,05$). Частота генотипа С/С в IA подгруппе составила 22 (64,7%), В IB подгруппе 37 (44,6%). В свою очередь, частота генотипа С/Т составила 10 (29,4%) и 37 (44,6%) соответственно. И частота генотипа Т/Т 2 (5,9%) и 9 (10,8%). Следовательно, фактором риска повышенных значений глюкозы крови, согласно аутосомно-рецессивной модели наследования, является генотип Т/Т (55,4% OR=1,95 (0,40-9,52), $p= 0,048$).

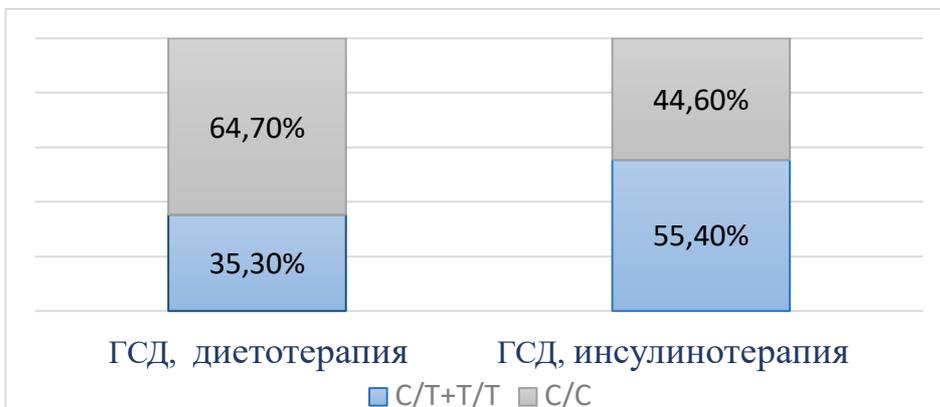


Рис.4 Распределение генотипов гена UCP3 (rs11800849)

При внутригрупповом анализе распределения аллелей и генотипов по распределению массы тела новорожденных были получено, что частота генотипа А/А полиморфного локуса *rs1137100* гена *LEPR* значимо выше у пациенток с маловесными детьми по сравнению с крупновесными (65,4%, против 16,7%). При этом для нормовесных плодов промежуточная частота генотипа А/А равняется 49,3%. Таким образом, согласно аутосомно-рецессивной модели наследования наличие генотипа А/А (83,3%) является фактором риска формирования маловесных плодов (OR=9,44 (2,15-41,48), $p=0,001$).



Рис.5 Распределение генотипов гена LEPR (rs1137100) и гена LEP (rs7799039)

Стоит отметить, что генотипическая частота аллеля А полиморфного локуса *rs7799039* гена *LEP* была значимо выше у пациенток с маловесными плодами в сравнении с крупновесными (50% против 22%, $p=0,008$). Согласно аутосомно-доминантной модели наследования наличие аллеля А (38,9%) является фактором риска формирования маловесных плодов у пациенток с ГСД (OR=0,15 (0,04-0,59), $p=0,004$). При этом, наличие генотипа G/G (61,1%) ассоциировано с рождением крупновесных плодов у женщин с ГСД согласно аутосомно-рецессивной модели наследования OR=6,60 (1,69-25,71), $p=0,04$).

Анализ клинических данных о состоянии гликемического профиля у пациенток, с перенесенным ГСД показал, что генотип G/G полиморфного локуса *rs1137101* гена *LEPR* в 93,4% ассоциирован с развитием гипергликемии в послеродовом периоде согласно аутосомно-рецессивной модели наследования (OR=6,40 (0,81-50,79), $p=0,04$), а генотип G/G полиморфного локуса *rs4253778* гена *PPRA* в 100% случаев ассоциирован также с развитием гипергликемии после родов, согласно аутосомно-рецессивной модели наследования ((OR=16,49 (1,06-255,94), $p=0,003$).

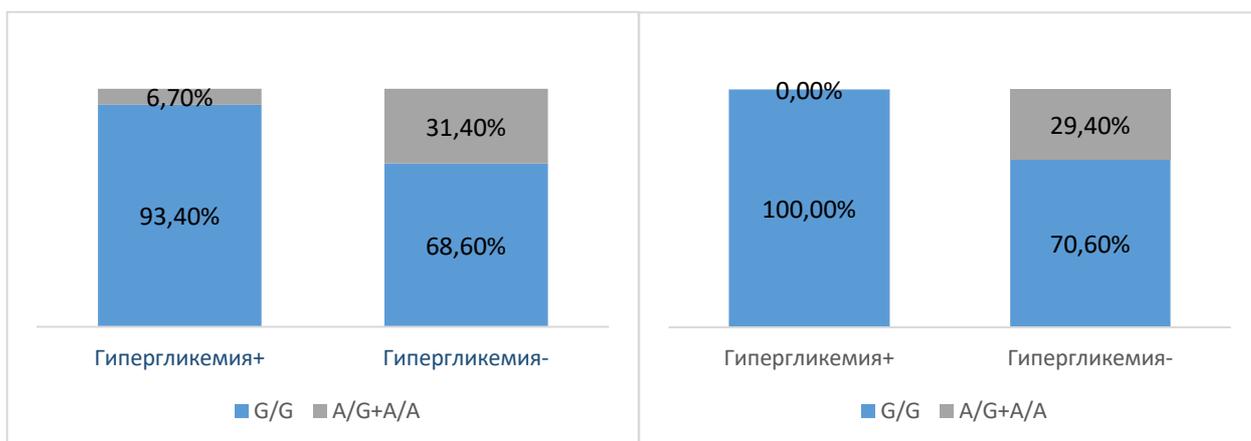


Рис.6 Распределение генотипов генов LEPR(rs1137101) и PPRA (rs4253778).

Исследование микроРНК

При исследовании уровня экспрессии микроРНК в 24, 28, 32 и 36 недель беременности было отмечено, что уровень экспрессии hsa-miR-30a-3p, hsa-miR-502-5p у женщин с ГСД оставался неизменным с 24 по 36 неделю гестации, в отличие от группы контроля, где отмечается выраженное снижение титра данных микроРНК с увеличением срока беременности. При этом статистически значимая ассоциация с ГСД и макросомией была отмечена у микроРНК 30a-3p ($p=0,043$), которая достоверно начинала различаться с нормой с 28 недель беременности. Также, уровень экспрессии hsa-miR-143-3p незначительно варьировался на всех исследуемых сроках, но в целом оставался неизменным. Стоит отметить, что в группе контроля концентрация данной микроРНК резко снижалась с 24 по 32 неделю, а к 36 неделе отмечался резкий скачок ее экспрессии, но это не было статистически значимо.

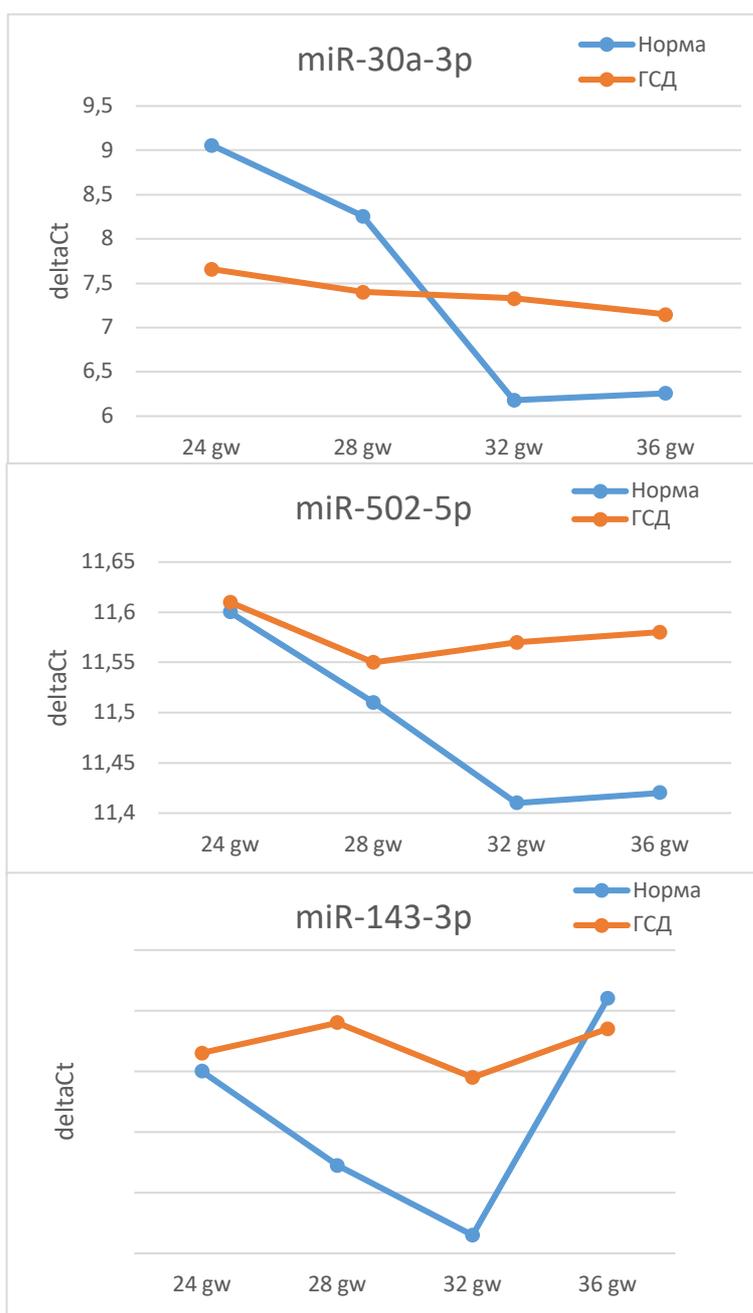


Рис.7 График зависимости уровня экспрессии hsa-miR-30a-3p (deltaCt) от срока гестации в группах контроля и ГСД.

Рис. 8 График зависимости уровня экспрессии hsa-miR-502-5p (deltaCt) от срока гестации в группах контроля и ГСД.

Рис. 9 График зависимости уровня экспрессии hsa-miR-143-3p (deltaCt) от срока гестации в группах контроля и ГСД.

Корреляционная матрица, показала, что уровень экспрессии hsa-miR-30a-3p на сроке 24 и 32 недели, и уровень экспрессии hsa-miR-143-3p на сроке 32 недели беременности в плазме крови статистически значимо коррелировал с уровнем глюкозы в крови при проведении ПГТТ. На 32 неделе беременности уровень экспрессии hsa-miR-502-5p статистически значимо коррелировал с окружностью живота плода. Уровень экспрессии hsa-miR-143-3p в 24 недели беременности положительно коррелировал с возрастом пациенток и их массо/ростовыми показателями. В 28 недель беременности экспрессия данной микроРНК положительно коррелировала с сроком беременности на момент родоразрешения, а в 36 недель беременности с окружностью головы новорожденных.

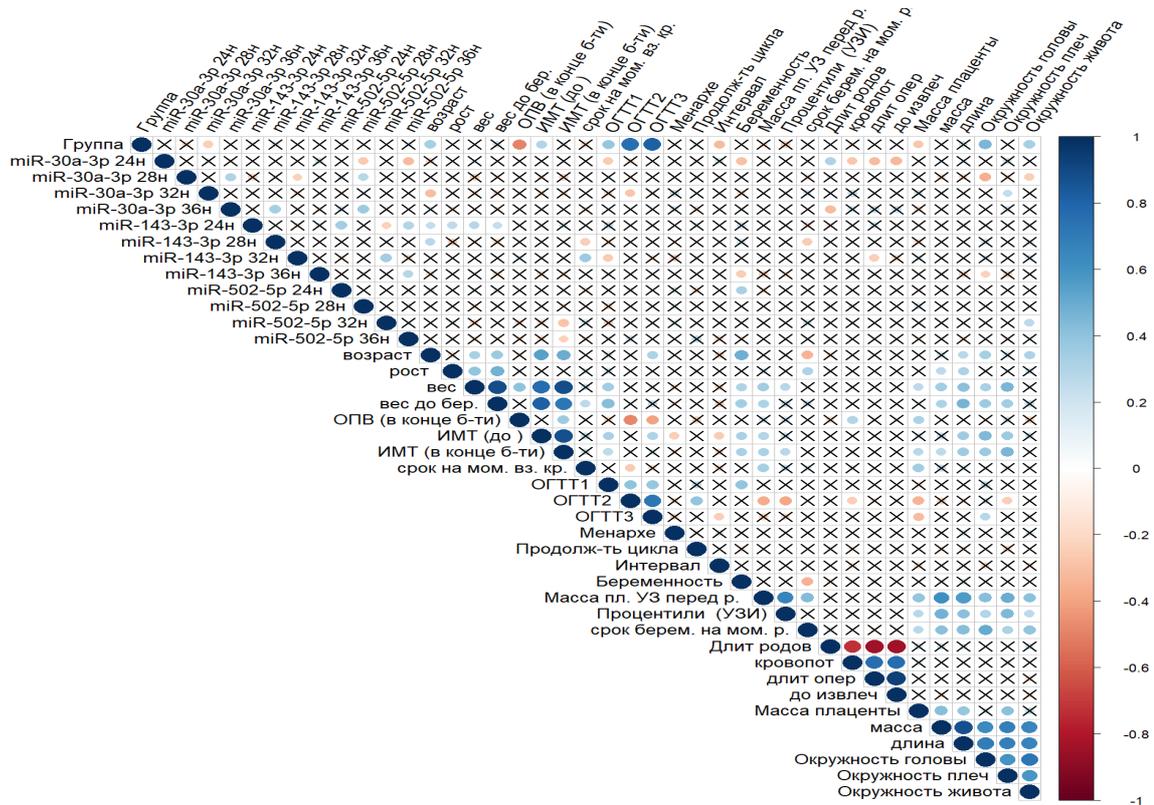


Рис.10 Корреляционная матрица. (Размер пятен пропорционален значению статистической значимости корреляции (чем больше размер пятна, тем выше статистическая значимость), цвет пятна означает прямую (синий) и обратную (красный) корреляцию, зачеркнутая ячейка обозначает отсутствие статистической значимости корреляций)

При построении бокс-диаграммы зависимости уровня экспрессии данной микроРНК и массы новорожденного получены значимые различия между новорожденными с массой тела менее 3600.0 грамм и массой тела более 3600.0 грамм между группами в 28 и 36 недель соответственно. На сроке 28 недель беременности статистически значимо отличалась группа контроля с массой тела новорожденных менее 3600.0 грамм в сравнении с группой ГСД и массой тела новорожденного более 3600.0 грамм по уровню экспрессии miR-30a-3p ($p < 0,024$). Кроме того, в этот же срок беременности статистически значимо

отличалась между собой группа ГСД и массой тела новорожденного менее 3600.0 грамм и более 3600.0 грамм ($p < 0,05$). В 32 недели беременности отмечались статистически значимые различия по уровню экспрессии miR-30a-3p в группе контроля и массой тела новорожденного более 3600.0 грамм в сравнении с группой ГСД и массой новорожденного менее 3600 грамм ($p < 0,032$), что свидетельствует о взаимосвязи уровня экспрессии miR-30a-3p и массы тела новорожденного.

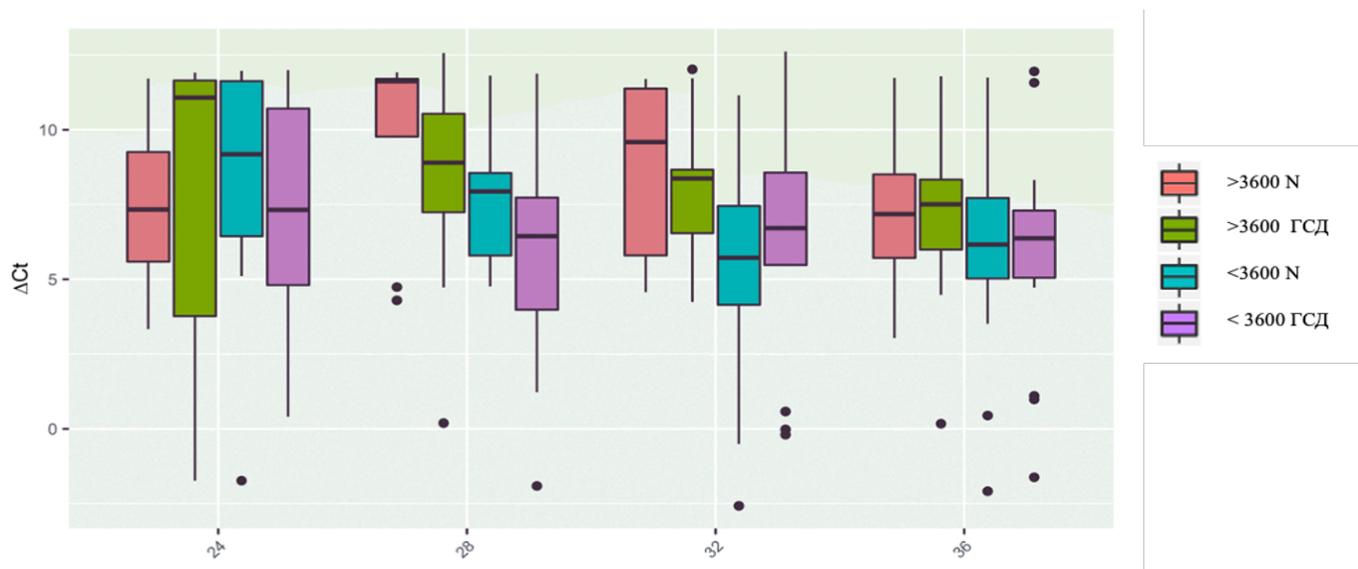


Рис.11. Бокс-диаграммы зависимости уровня экспрессии (deltaCt) hsa-miR-30a-3p от срока гестации в группе контроля и ГСД в сочетании со значением веса новорожденного

В результате анализа клинико-anamnestических характеристик и данных молекулярно-биологических исследований, проведенных в динамике, был разработан алгоритм ведения беременности у пациенток с ГСД (приложение 1).

ВЫВОДЫ

1. Гестационный сахарный диабет – большой акушерский синдром, с вовлечением молекулярно-генетических факторов. Возраст старше 35 лет, повышенный ИМТ, паритет, бесплодие, миома матки, патологическая прибавка массы тела, отягощенный семейный анамнез по диабету, сердечно-сосудистым заболеваниям, отягощенный акушерско-гинекологический анамнез являются факторами, повышающими риск возникновения ГСД.
2. У пациенток с ГСД беременность достоверно чаще осложняется угрозой прерывания с ранних сроков с назначением гормональной терапии и развитием гипертензивных расстройств с преобладанием ГАГ. ГСД является фактором риска развития поздних преждевременных родов в 5,9% случаев.
3. Повышенная прибавка ПМП при ГСД начинается с 18-й недель, а значительный прирост массы плода начинается с 22-й недель беременности. Инсулиноterapia

приводит к снижению ПМП по данным УЗ-фетометрии и может явиться фактором, сдерживающим прирост массы плода.

4. Молекулярно-генетическими детерминантами формирования крупного плода являются генотип G/G полиморфного локуса rs7799039 гена LEP и аллель G полиморфного локуса rs1137100 гена LEPR. В то время как генотип A/A полиморфного локуса rs1137100 гена LEPR и аллель A полиморфного локуса rs7799039 гена LEP ассоциированы с формированием маловесного плода. Прогностическим индикатором формирования макросомии плода и инструментом мониторинга эффективности терапии является динамика miR-30a-3p в процессе беременности.
5. Гипергликемия во всех трех точках при проведении ПГТТ повышает частоту назначения инсулинотерапии. У беременных с ГСД и эффективной диетотерапией - лишь в третьей точке (спустя два часа ПГТТ).
6. Носительство аллелей T локуса rs1800849 гена UCP3 и локуса rs3798220 гена LPA, ассоциированных с нестабильной гипергликемией, предрасполагает к назначению инсулинотерапии в большинстве случаев. Инсулинотерапия приводит к снижению ПМП по данным УЗ-фетометрии и может явиться фактором, сдерживающим прирост массы плода.
7. Носительство аллеля C локуса rs4253778 гена PPRA играет протективную роль в развитии инсулинорезистентности. Нарушенная толерантность к глюкозе после родов была диагностирована в 12,7% случаев спустя 6-12 недель после родов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При анализе клинико-анамнестических факторов риска развития ГСД, актуально выделить группу пациенток для тщательного мониторинга гликемии с целью снижения частоты осложнений гестации (макросомии/фетопатии плода).
2. Пациентки, перенесшие ГСД, нуждаются в более тщательном наблюдении акушера-гинеколога и эндокринолога, проведении ПГТТ через 6-12 недель после родов, в связи с высоким риском возникновения инсулинорезистентности и гипергликемии в будущем.
3. Для своевременного прогнозирования ГСД в комплексе обследования беременных целесообразно включать молекулярно-генетическое исследование:
(1) полиморфных локусов rs1137100 гена LEPR и rs4254778 гена PPRA для определения индивидуальной предрасположенности к гипергликемии

- (2) полиморфных локусов rs1800849 гена UCP3 и rs3798220 гена LPA при выявлении которых у пациенток с ГСД необходим тщательный контроль глюкозы крови, в связи с риском последующего назначения инсулинотерапии.
- (3) аллеля G полиморфного локуса rs1137100 гена LEPR и генотипа G/G полиморфного локуса rs7799030 гена LEP для определения предрасположенности к формированию крупных размеров плода.
- (4) аллеля A полиморфного локуса rs7799030 гена LEP и генотипа A/A полиморфного локуса rs1137100 гена LEPR для определения предрасположенности к формированию маловесных плодов.
- (5) miR-30a-3p в плазме крови для предикции развития макросомии плода и своевременной коррекции терапии при беременности.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Влияние ожирения и чрезмерной гестационной прибавки массы тела на исходы родов / Ходжаева З.С., Тимошина И.В., Дегтярева Е.И., **Снеткова Н.В.**, Потапова А.А. // Акушерство и гинекология. – 2018. - № 9. – С. 62-66.
2. Клинико-молекулярно-генетические детерминанты формирования гестационного сахарного диабета / Ходжаева З.С., **Снеткова Н.В.**, Клименченко Н.И., Абрамова М.Е., Дегтярева Е.И., Донников А.Е. / Акушерство и гинекология. – 2019. - № 4. – С. 18-24.
3. Особенности течения беременности у женщин с гестационным сахарным диабетом/ Ходжаева З.С., **Снеткова Н.В.**, Муминова К.Т., Горина К.А., Абрамова М.Е., Есян Р.М. / Акушерство и гинекология. – 2020. - № 7. – С. 47-52.
4. Возможности прогнозирования назначения инсулинотерапии при гестационном сахарном диабете по результатам перорального глюко-толерантного теста / Мать и дитя: материалы XXI^{ого} Всероссийского научно-образовательного форума: Москва, 28-30 сентября, 2020. /Ходжаева З.С., **Снеткова Н.В.**, Муминова К.Т., Абрамова М.Е., Есян Р.М. / С. 48-49.

Алгоритм ведения пациенток с гестационным сахарным диабетом во время беременности

