

Фролухина Ольга Борисовна

**КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ФОРМИРОВАНИЯ
ГЕСТАЦИОННОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА И НАРУШЕНИЙ
УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА ПОСЛЕ ЗАВЕРШЕНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ**

14.01.01 — Акушерство и гинекология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Челябинск – 2020

Работа выполнена в отделении антенатальной охраны плода Федерального государственного бюджетного учреждения «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Екатеринбург

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор

Башмакова Надежда Васильевна

кандидат медицинских наук, доцент

Третьякова Татьяна Борисовна

Официальные оппоненты:

Петрухин Василий Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии», директор

Белоцерковцева Лариса Дмитриевна – доктор медицинских наук, профессор, Бюджетное учреждения высшего образования Ханты-Мансийского автономного округа – Югры “Сургутский государственный университет” Медицинский институт, кафедра акушерства, гинекологии и перинатологии, заведующий

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение “Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта”

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2021 г. в _____ часов на заседании объединенного диссертационного совета Д 999.047.04 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, по адресу: г. Челябинск, ул. Воровского, 64

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и на сайте <http://www.chelsma.ru>

Автореферат разослан «_____» _____ 2021 г.

Ученый секретарь

объединенного диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

Казачкова Элла Алексеевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

По аналитическим данным Международной Федерации Диабета (IDF) за 2017 год было подсчитано, что порядка 21,3 миллиона живорождений были затронуты той или иной формой гипергликемии во время беременности (IDF Diabetes Atlas: Globales timates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. April 2018. Vol. 138, P. 271–281). Гестационный сахарный диабет (ГСД) является наиболее частой причиной гипергликемии у беременных, с которым встречаются эндокринологи и акушеры-гинекологи (Бурумкулова Ф.Ф., Петрухин В.А., Котов Ю.Б. Роль гипергликемии в формировании диабетической фетопатии при гестационном сахарном диабете. Сахарный диабет в XXI веке – время объединения усилий: сборник тезисов VII Всероссийского диабетологического конгресса. Москва, 2015. С. 273). Несмотря на достижения акушерской диабетологии, общая частота осложнений беременности и заболеваемость новорожденных не снижается (Гурьева В.М., Бурумкулова Ф.Ф., Будыкина Т.С. Осложнения беременности у женщин с сахарным диабетом и возможности их коррекции. Альманах клинической медицины. 2015. №37. С. 24-31).

Причин нарушения углеводного обмена, приводящих к развитию гестационного сахарного диабета, множество, среди которых лидирующую позицию, занимают генетические дефекты, при взаимодействии с повреждающими эпигенетическими факторами (Abell S.K., Courten B.D., Boyle J.A., Teede H.J. Inflammatory and other biomarkers: role in pathophysiology and prediction of gestational diabetes mellitus. Int. J. Mol. Sci. 2015. Vol.16, № 6. P. 13442 – 13473). Однако, их недостаточно для того, чтобы подтвердить или исключить вероятность развития гестационного сахарного диабета у конкретной женщины, предположить степень выраженности нарушений углеводного обмена во время беременности (Zheng J., Wang H., Ren M.J. Influence of exercise intervention on gestational diabetes mellitus: a systematic review and meta – analysis. Endocrinol. Invest. 2017. Vol.40, № 10. P.1027–1033). В исследованиях последних лет указывается на взаимосвязь с гестационным

сахарным диабетом таких генов как: 1A HNF1A, GCK, KCNJ11, TCF7L2, ген реназы, KCNJ11, ABCC8, TCF7L2, ND1, INS, INSR, IGF2, IRS1, PPARG, PPARGC1A, ADRB3, GLUT1, ADIPOQ, FOXC2, PAI-1 (Gjesing A.P., Rui G., Lauenborgetal J. High prevalence of diabetes – predisposing variants in mody genes among danish women with gestational diabetes ellitus. J.Endocr. Soc. 2017. Vol.1, № 6. P. 681-690).

Принимая во внимание патогенетическое сходство ГСД и сахарного диабета (СД) 2 типа, представляется актуальным исследование ассоциаций с ГСД генов – кандидатов СД 2 типа. Анализ аллельных вариантов генов (KCNJ11 K23E C>T, PPARG P12A C>G, TCF7L2 IVS3 C>T, TCF7L2IVS4 G>T), в сочетании с клиническими данными и ген-ген взаимодействиями может рассматриваться как перспективный подход выявления групп высокого риска развития ГСД и его отдаленных неблагоприятных последствий [1].

Цель исследования

Разработать прогностическую модель нарушений углеводного обмена во время беременности и после ее завершения на основании изучения молекулярно-генетических механизмов формирования гестационного сахарного диабета.

Задачи исследования

1. Оценить особенности течения и исходы беременности, а также отдаленные последствия нарушений углеводного обмена, у пациенток с гипергликемией и определить клиничко – анамнестические детерминанты, приводящие к формированию гестационного сахарного диабета
2. Оценить значение полиморфизма генов *KCNJ11 (K23E C>T)*, *PPARG (P12A C>G)*, *TCF7L2 (IVS3 C>T)* и *TCF7L2 (IVS4 G>T)* в риске формирования гестационного сахарного диабета у беременных в первом триместре.
3. Выявить значимые ДНК – локусы для риска формирования гестационного сахарного диабета и изучить роль межгенных взаимодействий в генезе нарушений углеводного обмена при беременности и после родов.
4. Разработать алгоритм прогноза развития гестационного сахарного диабета в первом триместре беременности, а также предиабета и сахарного диабета 2

типа после родов, на основе молекулярно-генетических исследований, оценки уровня лептина и с-пептида в сыворотке крови.

Методология и методы исследования

В работе использована общенаучная методология, основанная на системном подходе с применением формально логических, общенаучных и специфичных методов и основах доказательной медицины. Методология данной работы была основана на принципах доказательной медицины и складывается из двух этапов. На первом этапе предпринято сплошное, проспективное, когортное, сравнительное исследование пациенток основной группы с ГСД ($n=87$) и их новорожденные и пациенток с нормогликемией в группе сравнения ($n=37$) и их новорожденные. На втором этапе предпринято ретроспективное сравнительное когортное исследование пациенток основной группы ($n=87$) с целью оценки отдаленных неблагоприятных последствий нарушений углеводного обмена.

В работе использованы клинико-лабораторные, инструментальные, статистические методы исследования. Выбор использованных в работе методов исследования определялся в соответствии с отраслевыми стандартами обследования в акушерстве, рекомендациями по лабораторной диагностике и статистическими исследованиями.

Степень достоверности, апробация результатов, личное участие автора

Обоснованность выводов и достоверность диссертационного исследования подтверждена достаточным объемом выборок клинических исследований, корректным анализом и интерпретацией полученных результатов, статистической обработкой данных, соблюдением принципов доказательной медицины. Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на заседаниях проблемной комиссии и Ученого совета ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России.

Материалы диссертационной работы доложены на Международном Форуме Университетской науки – 2019 «Междисциплинарные аспекты репродуктивной медицины» (Москва, 2019), VII Конгрессе акушер-гинекологов Уральского федерального округа, с международным участием «Инновации в перинатальной и

репродуктивной медицине» (Екатеринбург, 2019), XX Юбилейном Всероссийском научно-образовательном форум «Мать и Дитя – 2019» (Москва, 2019 г.), VI научно-практической конференции акушеров-гинекологов УФО в дистанционном режиме «Малышевские чтения. Демографические вызовы современности в условиях пандемии COVID19» образовательный семинар «Репродуктивное здоровье в условиях новой коронавирусной инфекции» (Екатеринбург, 2020).

Автором, совместно с научным руководителем, проф. д.м.н. Башмаковой Н.В. и научным руководителем, к.м.н. Третьяковой Т.Б., определены цель и задачи, разработана методология и дизайн научного исследования, сформулированы выводы и практические рекомендации. Автором лично выполнен план обследования, оптимизация алгоритма ведения пациентов по результатам исследования, формирование базы данных пациентов, анализ данных отечественной и зарубежной литературы по теме диссертации, сбор анамнеза, клиническое обследование пациентов, обработка материала и статистический анализ проводился совместно с математиком к.м.н. Кочмашевым В.Ф. Написание текста диссертации и публикаций выполнены в соавторстве с научными руководителями.

Положения, выносимые в защиту

1. Наиболее значимыми клинико-анамнестическими особенностями женщин, беременность которых осложнилась гестационным сахарным диабетом, являются высокий индекс массы тела в I триместре беременности, уровень лептина $54,63 \pm 4,958$ нг/мл. и с-пептида $2,45 \pm 0,167$ нг/мл. при беременности, возраст старше 35 лет, высокий паритет и рождение детей с макросомией.
2. Нарушения углеводного обмена сохраняются после родов и проявляются в виде предиабета и сахарного диабета 2 типа после родов.

Гестационный сахарный диабет – патология с генетической предрасположенностью, в реализации которой участвуют полиморфизмы генов *KCNJ11* (*K23E C>T*), *PPARG* (*P12A C>G*) и *TCF7L2* (*IVS4 G>T*) и их взаимодействие между собой. Наибольший вклад в риск формирования

гестационного сахарного диабета вносят локусы *KCNJ11*: CC, *PPARG*: CC и *TCF7L2 (IVS4)*: GG.

3. Разработанные правила прогноза гестационного сахарного диабета и нарушений углеводного обмена после родов позволяют обеспечить персонифицированный подход к пациенткам группы риска этих осложнений.

Научная новизна

Впервые установлена роль межгенных взаимодействий в наследственной предрасположенности к ГСД и выявлены наиболее значимые локусы в генах-кандидатах, ответственные за снижение секреции инсулина и чувствительности к нему, обуславливающие как риск формирования патологии при беременности, так и после ее завершения, в виде предиабета и СД 2 типа.

Впервые установлены связи между генотипом и изменением уровня лептина и с-пептида, которые легли в основу разработанных в процессе исследования прогностических моделей риска формирования ГСД в первом триместре и риска развития предиабета и сахарного диабета 2 типа после родов.

На основе анамнестических данных, результатов молекулярно-генетических, клинических и биохимических исследований разработаны правила прогноза возникновения ГСД, а также предиабета и СД 2 типа после родов.

Теоретическая и практическая значимость работы

Расширены представления о роли однонуклеотидных замен в генах – кандидатах, ассоциированных с нарушениями углеводного обмена при беременности и после ее завершения. Получены новые данные о значимой роли межгенных взаимодействий в риске формирования ГСД и его последствий.

Разработан алгоритм прогноза ГСД, основанный на выявлении молекулярных и биохимических маркеров нарушения углеводного обмена, позволяющий на доклиническом этапе оценить риск развития патологии и своевременно проводить профилактические мероприятия, направленные на ее предотвращение или снижение тяжести проявления. Полученные в ходе исследования прогностические модели позволяют выявлять группы риска отдаленных заболеваний таких как предиабет и СД 2 типа, что может быть

использовано в клинической практике для предотвращения данной патологии или снижения степени ее выраженности.

Внедрение результатов исследования в практику

Полученные результаты исследования внедрены в работу ФГБУ «НИИ ОММ» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Екатеринбург), учебный процесс по программам клинической ординатуры, постдипломного образования.

По результатам исследования получен патент на изобретение “Способ прогнозирования риска развития гестационного сахарного диабета у беременных женщин” № 2716268 от 11 марта 2020 года.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 6 научных работ, общим объемом 1 печатный лист, из них 2 статьи в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых журналов и изданий для публикации основных научных результатов диссертаций, 1 патент на изобретение РФ, 3 работы опубликованы в материалах конференций и форумов.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 115 страницах печатного текста, иллюстрирована 19 рисунками и 41 таблицей. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 126 источников, из которых 52 отечественных и 74 зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

В соответствии с поставленными задачами, работа проведена в 2 этапа.

I этап. В исследование были включены 124 беременных с самостоятельно наступившей одноплодной беременностью в сроках гестации 8 - 36 недель и их новорожденные (рис.1). Основная группа – пациентки с установленным диагнозом

ГСД (n=87) и их новорожденные. Группу сравнения составили беременные женщины с нормогликемией (n=37) и их новорожденные.



Рисунок 1 – Дизайн исследования I этапа

Критерии включения пациенток в основную группу:

- пациентки в сроках гестации от 8 до 36 недель, с самостоятельно наступившей одноплодной беременностью, течение которой осложнилось гипергликемией, в любом сроке. Критерии включения соответствуют новым критериям диагностики, предложенных в декабре 2012 года Российским национальным консенсусом: “Гестационный сахарный диабет: диагностика, лечение, послеродовое наблюдение”.

Критерии исключения из исследования:

- Декомпенсированная экстрагенитальная патология, СД I и II типа, многоплодная беременность

Методология исследования: сплошное, проспективное, когортное, сравнительное исследование.

Второй этап исследования проводился спустя четыре года от момента родоразрешения у 87 пациенток основной группы (рис.2). Пациенткам группы исследования (n=87) предлагалось пройти анкетирование, оценить уровень гликемии натощак и провести пероральный глюкозотолерантный тест (ПГТТ).

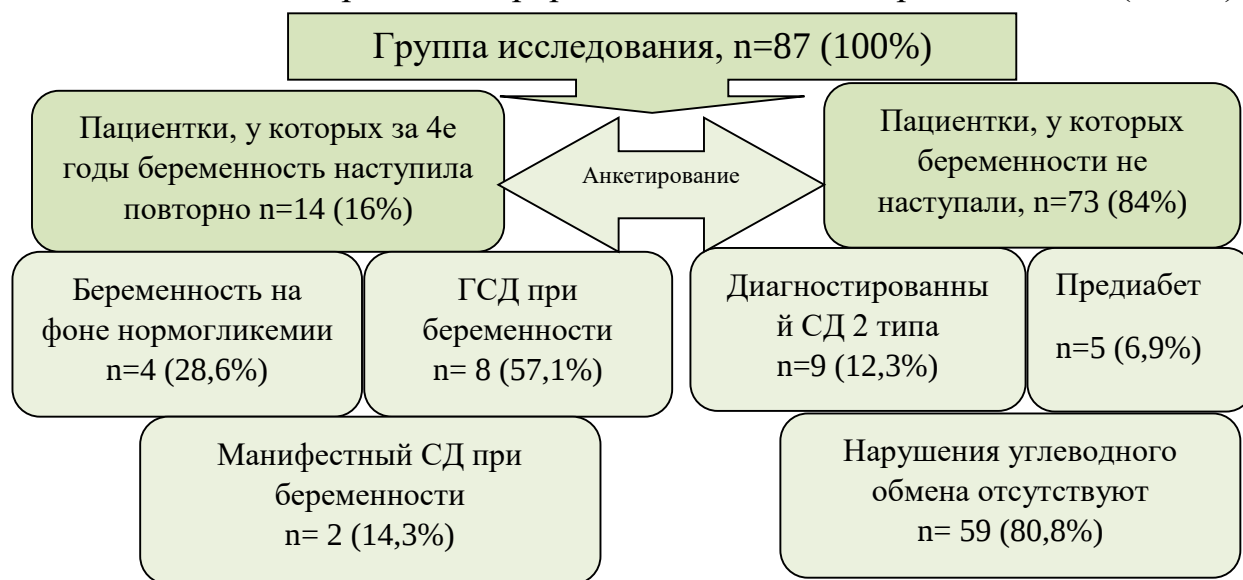


Рисунок 2 – Дизайн исследования II этапа

Методология исследования: ретроспективное сравнительное когортное исследование.

Для достижения цели и поставленных задач нами были использованы следующие методы:

1. Сбор анамнеза и общеклиническое исследование: проводился сбор соматического, акушерско-гинекологического анамнеза, течение настоящей беременности.

2. Биохимические методы исследования включали: оценка уровня глюкозы в сыворотке крови у матери, проведения ПГТТ в сроке 24-28 недель гестации, исследование лептина и с-пептида в I триместре беременности. Биохимическое исследование сыворотки венозной крови проводилось на биохимическом автоматическом анализаторе «Sapphire 400» (Япония) с помощью унифицированных тест-систем производства Cormay (Польша), Axis (Великобритания).

3. Молекулярно-генетические методы исследования: молекулярно-генетическое типирование полиморфных вариантов ключевых генов нарушения

углеводного обмена: *KCNJ11 (K23E C>T)*, *PPARG (P12A C>G)*, *TCF7L2 (IVS3 C>T)*, *TCF7L2 (IVS4 G>T)*. Детекция реакции пиросеквенирующего синтеза проводилась автоматически в режиме реального времени с помощью пиросеквенатора серии PyroMarkQ24.

4. Плода оценивался при помощи ультразвукового исследования с доплерометрией на аппарате ультразвуковом медицинском диагностическом «ACUSON Antares premium edition» с принадлежностями (SIEMENS Medical Solutions USA, Inc., США, ФС № 2005/1704).

5. Оценка состояния новорожденного по шкале Апгар (1-5 мин) на момент рождения, определение весо-ростовых параметров, комплексное клинико-лабораторное обследование с проведением нейросонографии на 3-5 сутки на УЗ-аппарате PhilipsHD – 15, датчики L 5-10 и C 3-6.

6. Методы статистической обработки данных: статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием пакетов прикладных программ «Microsoft Office, Excel 2016», «STATISTICA 13» и «MedCalc 15.8», а также при помощи программы «Multifactor Dimensionality Reduction» (mdr 3.0.2).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Средний возраст пациенток с гипергликемией составил $33,69 \pm 5,55$ (от 22 до 45 лет), у пациенток с нормогликемией $28,49 \pm 6,24$, что говорит об отсутствии статистической значимости ($p > 0,05$). Медиана индекса массы тела (ИМТ) в I триместре беременности у пациенток основной группы составила $26,34 \pm 4,82$ кг/м², в группе сравнения она составил $22,07 \pm 4,13$ кг/м² ($p > 0,05$). Пациентки с избыточной массой тела в I триместре беременности встречались достоверно чаще – 40,3%, чем в группе сравнения – 13,6% ($p < 0,05$).

Статистически значимые отличия были выявлены в частоте встречаемости многоплодных среди пациенток исследуемых групп. Так в основной группе пациентки с высоким паритетом встречались в 13,8 %, в группе контроля в 2,7% ($p < 0,05$).

Диагностированный гестационный сахарный диабет в анамнезе и рождение крупных детей в анамнезе (более 4000 грамм) встречались только у пациенток

основной группы – 11,5% и 9,2% соответственно. В группе сравнения данного факта зафиксировано не было.

Ультразвуковые признаки диабетической фетопатии были выявлены среди пациенток с гестационным сахарным диабетом – 17,2% случаев преимущественно в III триместре беременности. У пациенток с нормогликемией данного факта выявлено не было.

В основной группе медиана срока родоразрешения составила 39 ± 2 недель. Преждевременных родов (30,0-36,6 недель) было 6,9%, срочных 93,1%. В группе сравнения медиана срока родоразрешения составила 40 ± 2 недель. Преждевременных родов было в 2 раза меньше и составило 2,7%, роды в срок были у 97,3% пациенток. Достоверных отличий по приведенным показателям зафиксировано не было ($p > 0,05$). Ранние преждевременные роды (до 33 недель 6 дней) составили 3,45 % в основной группе, в группе сравнения данного факта зафиксировано не было. Поздние преждевременные роды (34,0 – 36,6 недель) произошли в 3,45% наблюдений в основной группе и в 2,7 % случаев (1 из 37) в группе сравнения. Причиной ранних преждевременных родов у пациенток с гипергликемией стали: прогрессирование плацентарной недостаточности – 3 случая (3,5%). Причиной поздних преждевременных родов в основной группе явилось: УЗИ признаки ДФ – 3 случая (3,5%), в группе сравнения начало родовой деятельности при наличии рубца на матке – 1 случай (2,7%).

Дети, рожденные в доношенном сроке беременности, от пациенток основной группы составили 93,1% случаев, в группе сравнения 97,3%. Вес новорожденных от женщин с гестационным сахарным диабетом имел тенденцию к макросомии, в сравнении с детьми от пациенток с нормогликемией. При оценке степени тяжести асфиксии новорожденных по шкале Апгар в исследуемых группах, достоверно чаще встречалась умеренная гипоксия в основной группе 10,35% случаев, против группы сравнения 2,7% случаев ($p < 0,05$). Новорожденные от женщин с ГСД достоверно чаще переводились в палату интенсивного наблюдения, в 11,5% случаев, в группе сравнения – 2,7 % ($p < 0,05$). В 3,5% случаев среди новорожденных

от женщин с гипергликемией постнатально была диагностирована диабетическая фетопатия.

Статистически значимыми был уровень лептина натощак. Анализ лабораторных показателей концентрации лептина выявил, что у пациенток с гестационным сахарным диабетом значение составляет $54,63 \pm 4,958$, у пациенток с нормогликемией $33,36 \pm 4,349$ ($p=0,00000034$). Достоверные отличия были получены также по уровню с-пептида у женщин исследуемых групп. Так у пациенток основной группы значение с-пептида натощак составляет $2,45 \pm 0,167$, у пациенток с нормогликемией $1,13 \pm 0,145$ ($p=0,00165$).

Результаты молекулярно-генетического тестирования полиморфизма генов KCNJ11 (K23E C>T), PPARG (P12A C>G), TCF7L2 (IVS3 C>T), TCF7L2 (IVS4 G>T) у женщин основной и группы сравнения позволили выявить ассоциации исследованных генотипов KCNJ11 CC, PPARG CC и TCF7L2 (IVS4) GG с риском формирования ГСД [2]. Наличие в генотипе вариантного аллеля С, по полиморфному варианту KCNJ11, увеличивает шансы развития ГСД у беременных ($\chi^2=8,66$; OR=2,59; 95% CI=1,36-4,94; $p<0,003$). При этом риск развития данной патологии возрастает только при наличии гомозиготного генотипа KCNJ11 CC по полиморфному маркеру KCNJ11 (K23E C>T) ($\chi^2=14,01$; OR=4,52; 95% CI=1,92-10,61; $p<0,0009$).

Анализ результатов генотипирования женщин основной и группы сравнения по полиморфизму PPARG (P12A C>G) показал, что наличие в генотипе вариантного аллеля С увеличивает шансы развития ГСД у беременных ($\chi^2=10,29$; OR=3,21; 95% CI=1,53-6,70; $p<0,001$) [5]. Как показало распределение объема генотипов по этому же локусу, риск развития ГСД возрастает только при наличии гомозиготного генотипа аллеля PPARG CC по полиморфному маркеру PPARG (P12A C>G) ($\chi^2=10,68$; OR=4,34; 95% CI=1,72-10,94; $p<0,005$).

Проведенные исследования показали значимость и полиморфного локуса TCF7L2 (IVS4 G>T) в наследственной предрасположенности к ГСД, так наличие в генотипе вариантного аллеля G, по полиморфному варианту TCF7L2, увеличивает шансы развития ГСД у беременных ($\chi^2=9,51$; OR=2,88; 95% CI=1,44-5,75; $p<0,002$).

По данным многофакторного анализа была сформирована трехлокусная модель генетического риска ГСД, представляющая собой совокупность из генотипов: KCNJ11 CT, PPARG CG и TCF7L2 (IVS4) GT, которая характеризовалась 86% чувствительностью и 65% специфичностью.

С целью определения риска формирования ГСД, был вычислен прогностический индекс X по формуле, разработанной на основании дискриминантного анализа методом распознавания образов [3]:

$$X = -17,2 + A*0,036 + B*0,57 + C*0,051 + D*0,088 + E*0,54 + F*1,34 + G*0,72 + H*0,38, \text{ где}$$

A – возраст пациентки, лет;

B – количество беременностей в анамнезе;

C – прегестационный ИМТ – кг/м²;

D – лепнин, нг/мл

E – с-пептид, нг/мл

F – KCNJ11 (KCNJ11CC – 2; KCNJ11 CT – 1; KCNJ11 TT – 0)

G – PPARG (PPARGCC – 2; PPARGCT – 1; PPARGGG – 0)

H – TCF7L2 (IVS4) (TCF7L2 GG – 2; GT – 1; TT – 0)

Если значения $X < -1.5$ – низкий риск развития ГСД; если в диапазоне $-1.5 < X < 1.5$ – средний риск развития ГСД; если $X > 1.5$ – высокий риск развития ГСД.

В расчете использовался дискриминантный анализ, так как зависимая переменная представляет собой не количественную, а номинальную переменную. Чувствительность метода составляет 73,56%, специфичность 78,38%, точность 83,84%. Порог отсечения отбирался исходя из оптимального соотношения Se и Sp (рис.3).

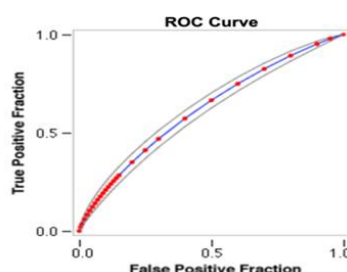


Рисунок 3 – ROC-кривая интегрального показателя X

Проверка правила проведена на экзаменационной выборке в модели нейронной сети (STATISTICA 13.3).

Разработанный, на основе проведенного исследования, алгоритм ведения беременности у пациенток группы риска по ГСД (рис.4) является диагностическим методом, позволяющим, на основе молекулярно-генетического тестирования генов углеводного обмена в сопряжении с исследованием лептина, с-пептида и данными анамнеза, спрогнозировать нарушения углеводного обмена на ранних сроках беременности [3].

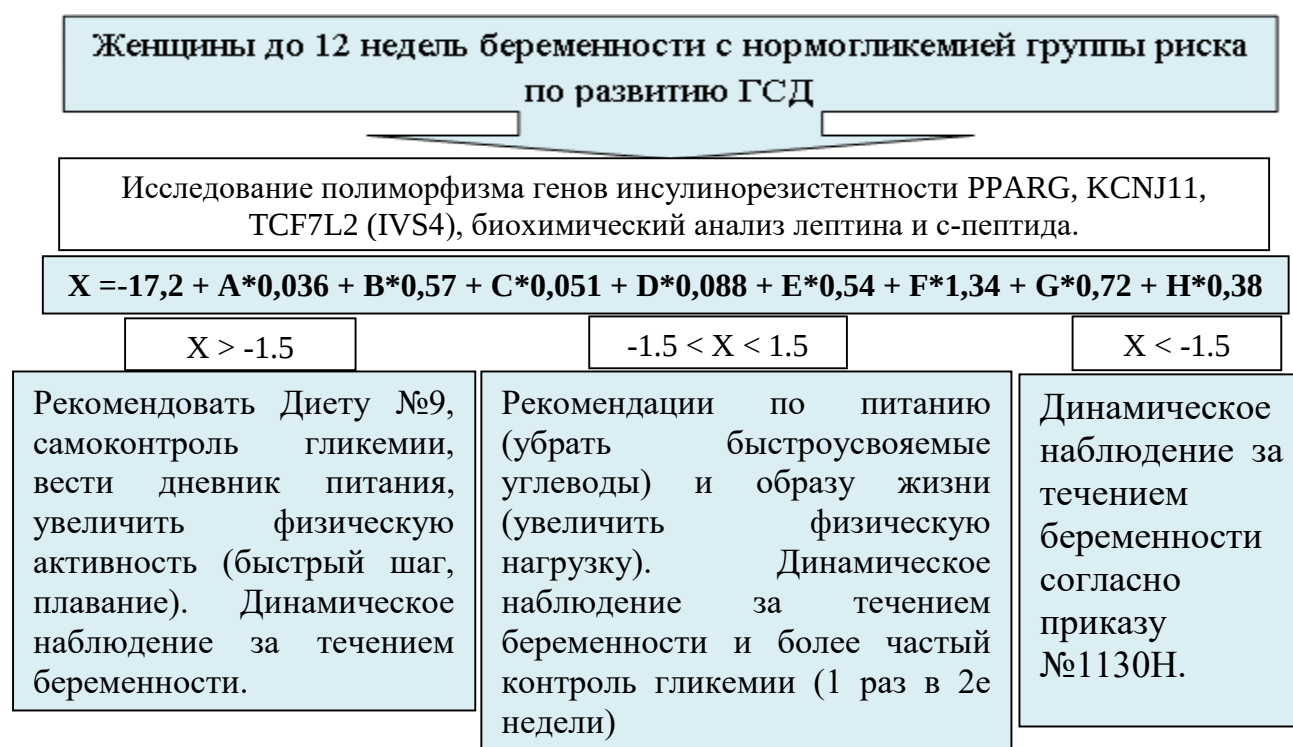


Рисунок 4 – Алгоритм ведения беременности у группы риска ГСД

Для оценки нарушений углеводного обмена после завершения беременности на фоне ГСД 87 женщинам было предложено пройти анкетирование и ответить на заданные вопросы (рис. 5)

Результат анализа данных анкет показал, что в 57,1% женщин, у которых беременность наступала повторно развился ГСД, в 14,3% дебютировал манифестный СД, в 28,6% регистрировалась нормогликемия. Среди женщин, у которых эпизодов беременности к моменту анкетирования зафиксировано не было: в 80,8% случаев нарушений углеводного обмена выявлено не было, в 12,3% диагностировался СД 2 типа, а в 6,9% предиабет.

АНКЕТА.

ФИО	Возраст		
№	Вопрос	Да	Нет
1	Нормализовался ли уровень сахара после родоразрешения		
2	Был ли проведен ОГТТ через 1 месяц после родоразрешения		
3	Были ли за последние четыре года еще эпизоды беременностей		
4	Выявлялось ли нарушение углеводного обмена при последующих беременностях		
5	Гестационный сахарный диабет при последующих беременностях		
6	Манифестный сахарный диабет при последующих беременностях		
7	Диагностированы ли за последние 4е года нарушения углеводного обмена		
8	Диагностирован сахарный диабет 2 типа		
9	Диагностирован предиабет		

Рисунок 5 – Анкета для выявления нарушений углеводного обмена у женщин после гестационного сахарного диабета

На момент анкетирования средний возраст пациенток при разных формах нарушений углеводного обмена составил 30-45 лет: с СД 2 типа $34,88 \pm 3,55$ (от 34 до 43 лет), с предиабетом $37,4 \pm 4,25$ (от 33 до 45 лет), пациенток с ГСД $33,65$ (от 30 до 40 лет).

Все женщины с нарушениями углеводного обмена имели ожирение. Медиана ИМТ среди женщин с ГСД составила $31,53 \pm 5,28$ кг/м², среди женщин с СД 2 типа $34,18 \pm 4,75$ кг/м², среди пациенток с предиабетом $31,74 \pm 5,15$ кг/м². Женщин с нормальной массой тела выявлено не было.

По данным анамнез все женщины с нарушением углеводного обмена были повторнородящие – 100% случаев. Все женщины с СД 2 типа и предиабетом в 100% случаев имели высокий паритет, а пациентки с ГСД только в 50%.

При предыдущих беременностях у женщин с СД 2 типа в 44,4% случаев были зафиксированы УЗИ признаки диабетической фетопатии, у женщин с предиабетом в 40% и у женщин с ГСД только в 25% случаев. При этом постнатально регистрировалась ДФ в 11,1% случаев от женщин с СД 2 типа, а у женщин с предиабетом и ГСД данного факта зафиксировано не было.

С целью выявления генетической предрасположенности к развитию отдаленных последствий в виде нарушений углеводного обмена у пациенток после ГСД, при помощи программы MDR нами построены оптимальные трехлокусные

модели межгенных взаимодействий генов инсулинорезистентности в зависимости от имеющего исхода у пациентов основной группы (табл. 1) [4].

Таблица 1 – Модели межгенных взаимодействий генов инсулинорезистентности пациенток основной группы

Модель	Точность предсказания	Воспроизводимость тестируемой модели	Отдаленные последствия нарушений углеводного обмена
KCNJ11 C, PPARGC, TCF7L2 (IVS3) C	86%	8/10	ГСД, при следующих беременностях
KCNJ11 C, PPARGC, TCF7L2 (IVS4) C	80%	8/10	СД 2 типа
KCNJ11 C, PPARGC, TCF7L2 (IVS4) C	100%	10/10	Предиабет

В риске развития гестационного сахарного диабета при последующих беременностях наибольший процент энтопии имеет ген TCF7L2 (IVS3) – 4,32% (рис.6) [5]. В риске развития СД 2 типа наибольшим предсказательным потенциалом обладает полиморфизм PPARG*С – 4,35 % (рис.7). Согласно рисунку 6 из трех анализируемых полиморфизмов наибольшим предсказательным потенциалом в риске развития предиабета обладаем полиморфизм TCF7L2 (IVS 4) – 2,78% (рис.8).

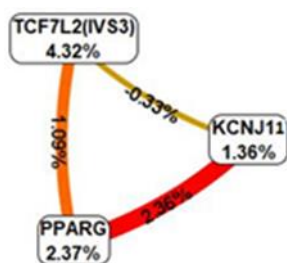


Рисунок 6 – Схема межгенных взаимодействий при риске развития ГСД

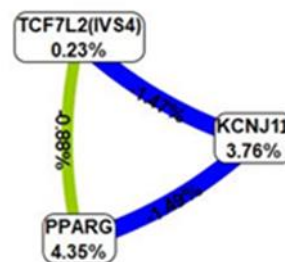


Рисунок 7 – схема межгенных взаимодействия при риске развития СД 2 типа

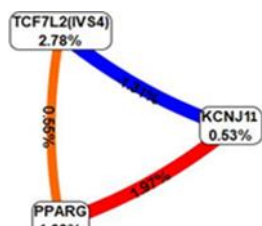


Рисунок 8 – схема межгенных взаимодействий при риске развития предиабета

Для оценки развития отдаленных неблагоприятных последствий нарушения углеводного обмена в виде СД 2 типа и предиабет, был вычислен прогностический индекс **Н** по формуле:

Н = $-11,64 + 2,52 \cdot A + 0,64 \cdot B + 0,73 \cdot C + 0,34 \cdot D + 1,9 \cdot E + 0,11 \cdot F$, где

А – Количество беременностей

В – Количество родов

С – М/а в анамнезе

Д – KCNJ11 (KCNJ11CC – 0; KCNJ11 CT – 1; KCNJ11 TT – 2)

Е – PPARG (PPARG CC – 0; PPARG CG – 1; PPARG GG – 2)

Ф – TCF7L2 (IVS3) (TCF7L2 CC – 0; CT – 1; TT – 2)

Если значение **Н** < 0 – низкий риск развития нарушений углеводного обмена в будущем, если **Н** > 0 – расценивается как высокий риск развития, указанных осложнений.

В расчете использовался дискриминантный анализ, так как зависимая переменная представляет собой не количественную, а номинальную переменную. Порог отсечения отбирался исходя из оптимального соотношения Se и Sp (рис.9).

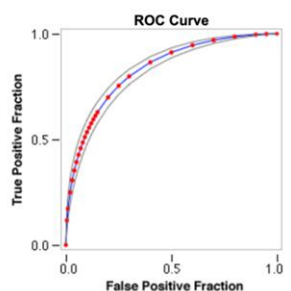


Рисунок 9 – ROC-кривая интегрального показателя **Н**

По результатам теста, точка отсечения равна 0. Чувствительность правила при значении **Н** > 0 составила 87,57%, а специфичность – 91,55%.

Проверка правила проведена на экзаменационной выборке в модели нейронной сети (STATISTICA 13.3).

Проведенное исследование и полученные результаты позволили разработать алгоритм прогнозирования риска развития СД 2 типа и предиабета (рис.10), на основе молекулярно-генетического тестирования генов углеводного обмена в сопряжении с данными анамнеза женщин, перенесших ГСД при предыдущих беременностях.

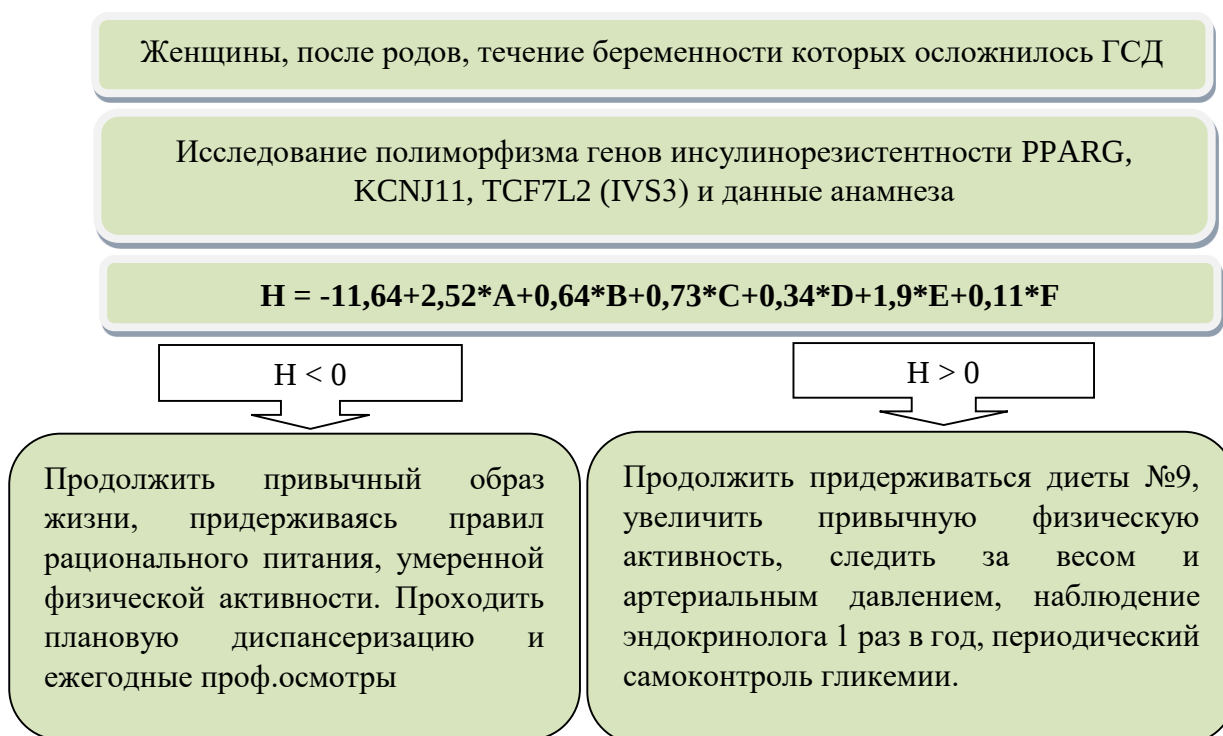


Рисунок 10 – Алгоритм прогнозирования развития развития СД 2 типа и предиабета у женщин с ГСД в анамнезе

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По данным нашего исследования на I этапе, в основную группу вошли женщины старше 35 лет с избыточной массой тела в I триместре беременности. Это может указывать на то, что возраст и избыточная масса тела в I триместре беременности являются факторами риска развития ГСД. В анамнезе в 11,5 % случаев женщины рожали крупных детей, в 9,2 % случаев предыдущие беременности осложнялись ГСД. Среди женщин основной группы, нарушения углеводного обмена наследовались по первой и второй линии родства, что говорит о наследственной программе указанных нарушений в будущем.

Проведенные исследования позволили выявить значимость полиморфизмов KCNJ11 (K23E C>T), PPARG (P12A C>G) и TCF7L2 (IVS4 G>T) в риске формирования ГСД.

Разработан алгоритм прогнозирования риска развития ГСД у беременных до 12 недель с нормогликемией на основе молекулярно-генетического тестирования генов углеводного обмена и их взаимодействия в сопряжении с исследованием лептина, с-пептида и данными анамнеза.

Проведенный анализ отдаленных неблагоприятных последствий, на II этапе исследования, в виде нарушений углеводного обмена выявил, что у женщин с ГСД в анамнезе спустя четыре года от момента родоразрешения развился СД 2 типа в 12,3% случаев и в 6,9% случаев предиабет. При помощи метода MDR получена трехлокусная модель наследования нарушений углеводного обмена, выявлены генотипы повышенного и пониженного риска развития СД 2 типа, обладающая 80% точностью предсказания и предиабета со 100% точностью прогноза.

Разработать алгоритм прогнозирования риска развития СД 2 типа и предиабета, на основе молекулярно-генетического тестирования генов углеводного обмена в сопряжении с данными анамнеза женщин, перенесших ГСД при предыдущих беременностях. Полученное правило прогноза позволило сформулировать алгоритм ведения женщин с ГСД после родоразрешения.

К перспективам дальнейшей разработки темы можно отнести более глубокий анализ отдаленных нарушений метаболизма у женщин после ГСД, обусловленных как изменениями последовательностей ДНК, так и эпигенетическими механизмами, а также влиянием факторов внешней среды.

ВЫВОДЫ

1. Клинико-анамнестические особенности женщин, беременность которых осложнилась гестационным сахарным диабетом, характеризуются высоким индексом массы тела ($25,0-29,0 \text{ кг/м}^2$) в I триместре беременности, повышением уровня лептина и с-пептида ($54,63 \pm 4,958 \text{ нг/мл.}$ и $2,45 \pm 0,167 \text{ нг/мл.}$ соответственно) при беременности, возрастом старше 35 лет, высоким паритетом и рождением детей с тенденцией к макросомии. Основными критериями декомпенсации углеводного обмена при поздних преждевременных родах у беременных с гестационным сахарным диабетом являются ультразвуковые признаки диабетической фетопатии, который подтверждены постнатально в 3,5% случаев. Нарушения углеводного обмена, после беременности на фоне гестационного сахарного диабета, могут сохраняться и проявляться в виде предиабет в 6,9% и сахарный диабет 2 типа в 12,3% случаев.

2. Риск формирования гестационного сахарного диабета ассоциирован с носительством определенных генотипов: *KCNJ11* CC ($\chi^2=14,01$; $OR=4,52$; 95% $CI=1,92-10,61$; $p<0,0009$), *PPARG* CC ($\chi^2=10,68$; $OR=4,34$; 95% $CI=1,72-10,94$; $p<0,005$) и *TCF7L2 (IVS4)* GG ($\chi^2=13,50$; $OR=4,69$; 95% $CI=1,87-11,81$; $p<0,001$). Прогностическая модель риска формирования гестационного сахарного диабета с учетом межгенных взаимодействий с 78,38% специфичностью и 73,56% чувствительностью определяет риск формирования данной патологии.

3. Молекулярно-генетическими предикторами формирования нарушений углеводного обмена в виде предиабета и сахарного диабета 2 типа после беременности на фоне гестационного сахарного диабета, являются определенные комбинации генов *KCNJ11*, *PPARG*, *TCF7L2 (IVS3)* в генотипе, позволяющие на основании правил прогноза с 87,57 % чувствительностью и 91,5% специфичностью определить риск развития данных заболеваний в будущем.

4. Разработанный алгоритм обследования пациенток с гестационным сахарным диабетом, предусматривает: выявление биохимических параметров нарушения метаболизма, определение молекулярно-генетических маркеров нарушения углеводного обмена и по разработанному правилу прогноза с точностью 83,84% формировать группу риска развития гестационного сахарного диабета у беременных с нормогликемией

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.

1. Всем женщинам с нормогликемией и клинико-анамнестическими факторами риска формирования гестационного сахарного диабета в первом триместре беременности рекомендуется проводить молекулярно – генетическое исследование полиморфизмов генов *KCNJ11* (K23E C>T), *PPARG* (P12A C>G) и *TCF7L2 (IVS4 G>T)* и определение лептина и с-пептида.
2. В I триместре беременности после клинико-лабораторного и молекулярно-генетического типирования необходимо оценить степень риска развития гестационного сахарного диабета у беременных с гликемией натощак $<5,1$ ммоль/л, с использованием решающего правила и прогностического индекса X. Для оценки риска развития сахарного диабета 2 типа и предиабета необходимо

использовать решающее правило прогноза с прогностическим индексом H и ряд профилактических мероприятий, которые следует произвести при высоком риске развития указанных осложнений.

3. Всем беременным высокого риска развития гестационного сахарного диабета ($X > -1.5$) необходимо рекомендовать диету №9, самоконтроль гликемии, вести дневник питания, увеличить физическую активность (быстрый шаг, плавание). При определении у пациентки низкого риска развития гестационного сахарного диабета ($X < -1.5$), показано обычное динамическое наблюдение за течением беременности согласно приказу № 1130н – “Порядок оказания медицинской помощи по профилю акушерство и гинекология”
4. Всем женщинам высокого риска развития предиабета и сахарного диабета 2 типа в будущем ($H > 0$) необходимы рекомендации по снижению веса, правильному питанию, физической активности, периодическому самоконтролю гликемии и ежегодному консультированию эндокринолога по месту наблюдения.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Фролухина, О.Б. Роль генов-кандидатов, как триггерных факторов развития гестационного сахарного диабета/ О.Б. Фролухина, Н.В. Башмакова, Т.Б. Третьякова, Е.Г. Дерябина // Лечение и профилактика.- 2019, -Т. 9, №3.- С.39-46.
2. Башмакова, Н.В. Гестационный сахарный диабет – генетические аспекты/ Н.В. Башмакова, Т.Б. Третьякова, О.Б. Фролухина, Е.Г. Дерябина// Проблемы репродукции.- 2019,- Т. 25, №6.- С. 22-28
<https://doi.org/10.17116/repro20192506122>
3. Способ прогнозирования риска развития гестационного сахарного диабета у беременных женщин: пат. на изобретение № 2716268 С1 Рос. Федерация: МПК: G01N 33/50 (2006.01) C12Q 1/68 (2006.01) / Башмакова Н.В., Фролухина О.Б., Третьякова Т.Б., Дерябина Е.Г.; патентообладатель ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России - № 2716268; заявл. 08.10.2019г ; опубл. 11.03.2020г, Бюл. № 8.

4. Башмакова, Н.В. Роль межгенных взаимодействий в риске формирования гестационного сахарного диабета / Н.В. Башмакова, Т.Б. Третьякова, Е.Г. Дерябина, О.Б. Фролухина // Материалы научно-практической конференции “XX Юбилейный Всероссийский научно-образовательный форум Мать и Дитя – 2019”, Москва – 2019. – С.177-178.
5. Фролухина, О.Б. Гестационный сахарный диабет – генетические аспекты / О.Б. Фролухина, Н.В. Башмакова, Т.Б. Третьякова, Е.Г. Дерябина // Материалы IX Научно-практической конференции эндокринологов Уральского Федерального округа России “Актуальные проблемы современной эндокринологии” Екатеринбург – 2019. – С.55-57.
6. Башмакова, Н.В. Роль межгенных взаимодействий в риске формирования гестационного сахарного диабета/ Н.В. Башмакова, Т.Б. Третьякова, Е.Г. Дерябина, О.Б. Фролухина // Материалы VI научно-практической конференции акушеров-гинекологов УФО в дистанционном режиме «Малышевские чтения. Демографические вызовы современности в условиях пандемии COVID19» образовательный семинар «Репродуктивное здоровье в условиях новой коронавирусной инфекции». – 2020. – С. 10-12– Екатеринбург, 2020 (тезисы).

Список сокращений

АГ – Артериальная гипертензия

АД – Артериальное давление

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ГСД – Гестационный сахарный диабет

ДФ – Диабетическая фетопатия

ИМТ – Индекс массы тела

СД – Сахарный диабет

ADA – американская диабетологическая ассоциация

HAPO – Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes – гипергликемия и неблагоприятные исходы беременности

IDF – международная диабетологическая федерация

Фролухина Ольга Борисовна

КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ФОРМИРОВАНИЯ ГЕСТАЦИОННОГО
САХАРНОГО ДИАБЕТА И НАРУШЕНИЙ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА ПОСЛЕ
ЗАВЕРШЕНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ

14.01.01 – Акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата
медицинских наук

Челябинск – 2020