

МАЯЦКАЯ ТАТЬЯНА АЛЕКСАНДРОВНА

**ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОМА КИШЕЧНИКА
У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА, РОЖДЕННЫХ ОТ МАТЕРЕЙ
С ГЕСТАЦИОННЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ**

3.1.21- Педиатрия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук, профессор

Харитоновна Любовь Алексеевна

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор

Мазанкова Людмила Николаевна

заведующий кафедрой детских инфекционных болезней Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования "Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Доктор медицинских наук, профессор

Никитина Ирина Леоровна

заведующий кафедрой детских болезней с клиникой лечебного факультета Института медицинского образования, заведующий научно-исследовательской лабораторией детской эндокринологии института эндокринологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация

Федеральное бюджетное учреждение науки Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора

Защита состоится «__»_____2023 года в_____ часов на заседании Диссертационного совета Д 21.2.058.11 при ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д.1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (117997, г. Москва, ул. Островитянова, д.1) и на сайте www.rsmu.ru

Автореферат разослан «__»_____2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

Доктор медицинских наук, профессор

Дубровская Мария Игоревна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Условия внутриутробного развития плода, особенности его взаимодействия с материнским организмом, накопление энергетических и метаболических субстратов во многом определяют фенотип ребенка в постнатальной жизни (Радзинский В.Е. с соавт., 2020).

Согласно исследованиям последних лет, изменения углеводного и липидного метаболизма во время беременности, протекающей на фоне гестационного сахарного диабета, провоцируют развитие ряда осложнений не только у матери, но и у плода (Domanski G. et. al., 2018). Известно, что наиболее характерным проявлением в ответ на гипергликемию матери является диабетическая фетопатия (ДФ) (Yeagle K.P. et. al, 2018). Помимо фенотипических признаков, к симптомокомплексу ДФ относят и ряд функциональных отклонений, обусловленных, в первую очередь, патологической незрелостью всех систем и поражением центральной нервной системы (Мищенко О.И. с соавт., 2020).

Отдаленные последствия для потомства матерей с ГСД мало изучены. Но проблемы состояния здоровья детей от матерей с ГСД не ограничиваются неонатальным периодом (Leveille P. et. al., 2018). ГСД и ожирение матери напрямую связывают с формированием ожирения, метаболического синдрома у потомства в будущем (Bellatore A. et. al., 2018). Также в настоящее время проведены исследования, подтверждающие теорию нестерильности внутриутробных условий пребывания плода и критичном периоде становления микробиома кишечника в первые три года жизни (Sereme Y. et. al., 2021). В норме микробиом должен обладать определенной степенью устойчивости к внешним или внутренним изменениям и способностью к восстановлению до здорового функционального профиля, что способствует устойчивой экологии, связанной с хозяином (Кайбышева В.О. с соавт., 2020). Однако, различные болезни, генетическая предрасположенность, особенности питания и образа жизни могут вносить изменения во взаимоотношения макро- и микроорганизмов, нарушая состав индигенной микробиоты кишечника (МК) (Aatsinki A.K. et. al., 2018). Кроме того, определяя виды бактерий, населяющих кишечник, можно составить прогноз манифестации той или иной патологии, в том числе гестационный сахарный диабет (McHarg A.S. et. al., 2022). Таким образом, дислипидемия, инсулинорезистентность, гиперинсулинизм матери и нарушение её кишечного микробиома могут стать причиной дисбиоза у ребенка.

Ранние исследования микробиома были направлены на выявление набора микробов, которые колонизируют кишечник людей по культуре и характеристике физиологических свойств согласно стандартному бактериологическому методу. Но внедрение в медицинскую практику современных генетических методов исследования микробного сообщества, в том числе полногеномного метода секвенирования ампликона 16S рРНК позволили более объективно идентифицировать патологические изменения в организме человека, связанные с дисбиотическим составом микробиома кишечника (Bui et. al., 2023). Исследование измененного микробиома кишечника на высоком уровне может помочь выявить предрасположенность к заболеваниям до их манифестации.

В связи с вышеизложенным, исследовательская работа по изучению этапов становления микробиома кишечника у детей раннего возраста, рожденных от матерей с ГСД, является актуальной, позволяющей не только определить закономерности формирования микробиома кишечника у данной когорты детей, но и выявить механизмы влияния последнего на организм ребенка.

Степень разработанности темы

В последние годы появилось большое количество публикаций, связанных с влиянием изменений углеводного и липидного метаболизма во время беременности, протекающей на фоне ГСД, на развитие ряда осложнений не только у матери, но и у плода (Kawasaki M. et. al., 2018). При этом у женщины отмечаются процессы неспецифического воспаления и эндотелиальной дисфункции, которые в свою очередь влияют на состояние новорожденного и ребенка в различные периоды жизни (Радзинский В.Е. с соавт., 2020). Большинство работ посвящено ДФ как наиболее грозному осложнению ГСД (Domanski G. et. al., 2018). Все перечисленное позволяет рассматривать ГСД как состояние, провоцирующее долгосрочные нарушения метаболизма потомства от данной беременности.

Также в настоящее время проведены исследования, подтверждающие теорию нестерильности внутриутробных условий пребывания плода и критичном периоде становления микробиома кишечника в первые три года жизни (Aatsinki, A.K. et. al., 2018). Таким образом, дислипидемия, инсулинорезистентность, гиперинсулинизм матери и нарушение её кишечного микробиома могут стать причиной дисбиоза у ребенка.

Ранние исследования микробиома были направлены на выявление набора микробов, которые колонизируют кишечник людей по культуре и характеристике физиологических свойств согласно стандартному бактериологическому методу. Между тем, исследование измененного микробиома кишечника на высоком генетическом уровне, в том числе с использованием полногеномного метода секвенирования ампликона 16S рНК (Kaur K. et. al., 2020) позволит более объективно идентифицировать патологические изменения в организме ребенка, обусловленные дисбиотическим составом микробиома кишечника, может помочь выявить предрасположенность к заболеваниям до их манифестации.

Перспективных исследований микробиома кишечника у детей раннего возраста, рожденных от матерей с ГСД крайне мало. Встречаются единичные и малоинформативные исследования мекония новорожденных и оральной микробиоты детей первого месяца жизни от матерей с ГСД (Dessi A. et. al., 2022). В связи с чем требуется дальнейшее изучение данной проблемы.

Цель исследования

Совершенствовать диагностику нарушений микробиома кишечника при помощи метода полногеномного секвенирования ампликона 16S рНК для определения более качественного и количественного видового состава микробиома кишечника и показать влияние дисбиотически измененного микробиома на состояние здоровья детей раннего возраста, рожденных от матерей с гестационным сахарным диабетом.

Задачи исследования

1. Провести анализ преморбидного фона детей и дать клиническую оценку состояния здоровья детей раннего возраста, рожденных от матерей с ГСД.
2. Изучить видовой состав и метаболическую активность микробиома кишечника стандартным бактериологическим методом и методом NGS секвенирования 16s рРНК у детей раннего возраста от матерей с ГСД.
3. Сравнить диагностическую значимость стандартного бактериологического метода исследования с методом секвенирования 16s рРНК.
4. Определить взаимосвязь состояния микробиома кишечника с состоянием соматического статуса и обменными нарушениями у детей раннего возраста, родившихся от матерей с ГСД.
5. Составить алгоритм ранней диагностики и профилактики нарушений микробиома кишечника у детей раннего возраста, рожденных от матерей с ГСД.

Научная новизна

В популяции детей России впервые проведен комплексный анализ влияния состояния матерей с гестационным сахарным диабетом не только на соматический статус ребенка, но и на становление микробиоты кишечника у данной когорты детей в раннем возрасте.

Выявлена значимая взаимосвязь нарушений углеводного и жирового обменов, инсулинорезистентности, ожирения с дисбиотическими нарушениями микрофлоры кишечника, с риском формирования неспецифического воспаления в стенке толстой кишки и возможностью манифестации сахарного диабета у детей, рожденных от матерей с ГСД.

Впервые изучен микробиом кишечника у детей раннего возраста, рожденных от матерей с ГСД стандартным бактериологическим методом и NGS секвенированием 16s рРНК, проведен сравнительный анализ полученных результатов. Обосновано, что для объективной оценки не только количественных показателей, но и ферментативной, метаболической активности микрофлоры кишечника необходимо комплексное биохимическое исследование кала с определением летучих жирных кислот и сочетать последний с методом NGS секвенированием 16s рРНК.

Показаны этапы становления микробиома кишечника с определением индекса биоразнообразия и степени его выраженности у детей от матерей с ГСД с рождения до 3х лет.

Установлены особенности метаболической активности микробиома кишечника и её соотношение с соматическим статусом и обменными процессами у детей раннего возраста, рожденных от матерей с ГСД.

Предложен алгоритм комплексного подхода к диагностике нарушений микробиологии кишечника у детей, рожденных от матерей с ГСД.

Теоретическая и практическая значимость

1. Выполненное исследование содержит новые знания об особенностях становления

микробиома кишечника у детей, рожденных от матерей с ГСД.

2. Выявленные факторы риска формирования метаболических нарушений у детей, рожденных от матерей с ГСД, могут быть использованы для оптимизации ранней диагностики и профилактики нарушений микробиома кишечника у данной когорты детей.

3. Описанные особенности микробиома кишечника у детей, рожденных от матерей с ГСД, позволят разработать дифференцированный подход к коррекции данных нарушений и снижению рисков развития метаболических нарушений у детей на ранних стадиях развития патологического процесса.

Методология и методы исследования

Работа проводилась на базе родильного дома и педиатрического отделения при Государственном бюджетном учреждении здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница № 29 им. Н.Э. Баумана Департамента здравоохранения города Москвы» (главный врач - к.м.н. Папышева О.В.) и Государственном бюджетном учреждении здравоохранения города Москвы «Детская городская поликлиника № 122 Департамента здравоохранения города Москвы» (главный врач - к.м.н. Брагин А.И.). Клинико-лабораторное исследование выполнено у 494 детей в возрасте от 0 мес. до 3 лет с 2017 по 2021 год, которые рождены от матерей с гестационным сахарным диабетом. Применялись клинические, лабораторные, инструментальные и статистические методы исследований. Полученные данные систематизированы, изложены в главах собственных исследований. Сформулированы выводы, практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Дети раннего возраста, рожденные от матерей с ГСД склонны к избыточной массе тела, формированию дислипидемии, диспротеинемии и нарушениям углеводного обмена в сторону развития инсулинорезистентности.

2. У детей, рожденных от матерей с ГСД дисбиотические изменения обусловлены высоким биоразнообразием микробиома кишечника от рождения до 3х лет, внутреннее микробное равновесие неустойчиво и имеет тенденцию к преобладанию патогенных микроорганизмов.

3. Высокая метаболическая активность микробиома кишечника у детей от матерей с ГСД сопровождается суммарным повышением короткоцепочечных жирных кислот, «тяжелых» форм и их изомеров, что может быть обусловлено, как компенсаторными процессами регуляции собственного микробиома, так и базой для формирования дисбиоза за счет преобладания протеолитических бактерий.

4. У детей, рожденных от матерей с ГСД, микробиом кишечника сохраняет свою стабильность за счет высокой метаболической активности оппортунистов как с потенциально патогенными, так и положительными свойствами и зависит от степени нарушения микробного баланса в микробном сообществе в целом.

5. Показатели углеводного (глюкоза крови, фруктозамин) и жирового обменов (ОХС, ЛПНП, ЛПОНП, ЛПВП) у детей от матерей с ГСД значимо коррелировали с высокой активностью протеолитической микробиоты кишечника, что демонстрирует менее надежную систему поддержания гомеостаза углеводного и жирового обменов при помощи микробиома кишечника. В то же время, выявленная прямая корреляционная связь индекса массы тела возраста ребенка с *Proteobacteria* может иметь неблагоприятный исход в виде паратрофии и ожирения у данной когорты детей.

Степень достоверности результатов и апробация результатов исследования

О достоверности полученных результатов свидетельствует достаточный объем диссертационного исследования, публикации в журналах, которые входят в перечень рецензируемых научных журналов, рекомендуемых ВАК. Статистическая обработка результатов происходила в специальных программах для обработки данного материала. Ценностью результатов исследования является их успешное использование в практике.

Основные положения диссертации были заслушаны и обсуждены на V, VI Московском городском съезде педиатров с межрегиональным и международным участием «Трудный диагноз в педиатрии» (2019, 2020 гг., Москва), XXVII, XXVIII, XXIX Конгрессе детских гастроэнтерологов России и стран СНГ (2020, 2021, 2022 гг., Москва), XII Всероссийской научно-практической конференции «Инфекционные аспекты соматической патологии у детей» (2020г, Москва), 26 Объединенной Российской гастроэнтерологической недели (2020г, Москва), XXI Ежегодном Конгрессе детских инфекционистов России с международным участием (2022г, Москва).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты проведенных исследований внедрены в практику работы отделения новорожденных №2 и детского консультативно-диагностического отделения при ГБУЗ «Городская клиническая больница № 29 им. Н.Э. Баумана Департамента здравоохранения города Москвы» и ГБУЗ «Детская городская поликлиника № 122 Департамента здравоохранения города Москвы». Полученные в ходе исследования результаты применяются в учебном процессе при подготовке слушателей на кафедре педиатрии с инфекционными болезнями у детей Факультета дополнительного профессионального образования Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 3.1.21 – педиатрия. Результаты работы соответствуют области исследования специальности, а именно пунктам 1,2,3,4 паспорта научной специальности педиатрия (медицинские науки).

Личное участие автора

Автор принимала непосредственное участие в клиническом обследовании детей, рожденных от матерей с ГСД с периода новорожденности до 3 лет. Самостоятельно проведены разработка и заполнение формализованных анкет, сбор анамнеза, динамическое наблюдение за детьми в амбулаторных условиях. Сформирована база данных, проанализированы результаты исследования, обобщен и статистически обработан материал.

Публикации

По теме опубликовано 16 печатных работ, из них 7 работ в рецензируемых изданиях ВАК при Минобрнауки РФ и 2 патента на изобретение.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 159 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа иллюстрирована 15 рисунками и 52 таблицами. Список литературы содержит 124 источника, из которых 24 отечественных и 100 зарубежных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Работа проводилась на кафедре педиатрии с инфекционными болезнями у детей ФДПО ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ (зав. каф. - д.м.н., профессор Л.А. Харитонов). С 2017 по 2021 гг. было выполнено проспективное рандомизированное исследование на базе родильного дома и педиатрического отделения при ГБУЗ ГКБ № 29 им. Н.Э. Баумана ДЗМ (гл. врач - к.м.н. Папышева О.В.) и ГБУЗ ДГП № 122 ДЗМ (гл. врач - к.м.н. Брагин А.И.). Исследование одобрено локальным этическим комитетом РНИМУ им. Н.И. Пирогова (протокол №180 от 17.12.2018 г). Обследовано 494 ребенка, которые наблюдались ежегодно с рождения до 3 лет, от каждого из их родителей и/или опекуна было получено информационное согласие.

Дети были разделены на две группы: I группа – 399 детей, рожденных от матерей с ГСД; 220 (55,1%) мальчиков, 179 (44,9%) девочек. II группа — 95 детей, рожденных от матерей без ГСД, контрольная группа (КГ) 49 (51,6%) мальчиков, 46 (48,4%) девочек (Рисунок 1). *Критерии включения в исследование:* дети, родившиеся от матерей с установленным в настоящую беременность ГСД, одноплодной беременностью, на доношенном сроке, самостоятельными родами. *Критерии исключения из исследования:* отказ законного представителя ребенка на исследование, наличие диагностированных острых заболеваний у ребенка в течение последнего месяца, прием антибиотиков и пробиотиков в последние 6 месяцев, катамнестическое наблюдение менее 12 месяцев. *Критерии невключения в исследование:* дети, родившиеся от матерей с любым типом прегестационного СД, с экстракорпоральным оплодотворением, от преждевременных родов, с помощью операции кесарева сечения.

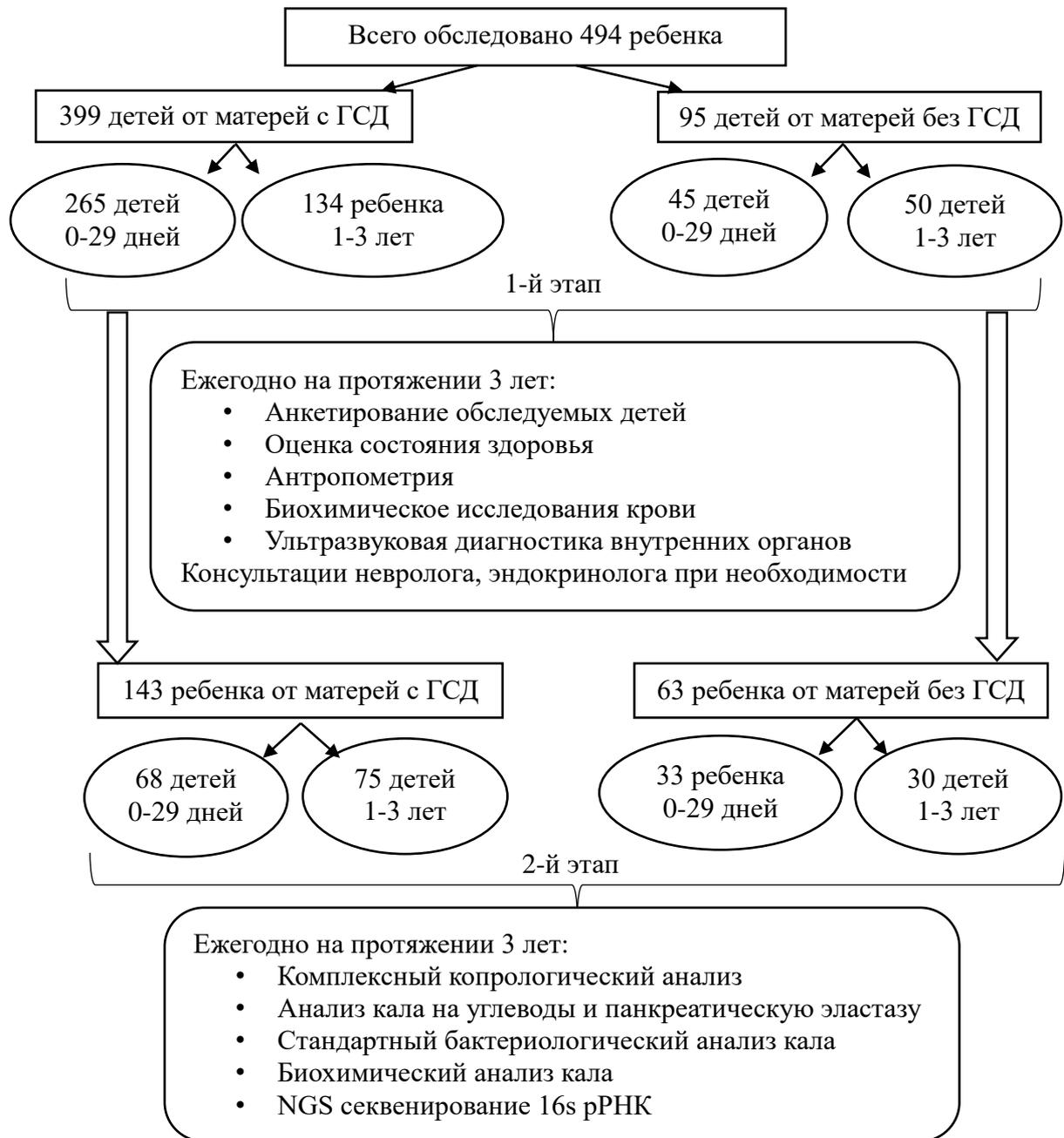


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Всем детям выполнялись: сбор анамнеза, общеклинические, лабораторные (кровь, кал), инструментальные (УЗИ органов брюшной полости, эхокардиография) исследования. Оценивались: течение беременности, родов и неонатального периода, особенности вскармливания ребенка на первом году жизни. Изучали структуру заболеваемости в течение первых трех лет жизни. Оценка физического развития детей проводили по стандартам ВОЗ (2006) с использованием программы WHO Anthro Plus (2009) с определением значений средних величин массы тела (МТ), роста и индекса массы тела (ИМТ) и по значениям величины Z-score

Биохимические исследования сыворотки крови выполнялись на анализаторе ADVIA 1800, выполнялись исследования ОХС и его фракций высокой (ЛПВП), низкой (ЛПНП) и очень

низкой плотности (ЛПОНП), триглицеридов (ТГ), коэффициент атерогенности (КА); белкового (общий белок, альбумины, глобулины: альфа-1, альфа-2, бета-1, бета-2, гамма), углеводного (С-пептид, фруктозамин, гликированный гемоглобин, глюкоза) обменов; показатели билирубина и его фракций (прямой, непрямой), аспаратаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), панкреатической амилазы, липазы, холинэстеразы. Для оценки микробиома кишечника использовали стандартный бактериологический анализ кала (метод посева кала на жидкие агаризованные питательные среды), комплексное копрологическое исследование с определением панкреатической эластазы (метод ELISA) и углеводов кала (метод Бенедикта), биохимическое исследование кала с определением короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) (метод газо-жидкостной хроматографии), метод NGS секвенирования 16S рРНК МК. За меру дисбиоза кишечника был принят индекс Шеннона.

Результаты исследований регистрировались на индивидуальных картах с их кодированием для дальнейшей статистической обработки с использованием программных пакетов Statistica 8.0. и MS Office Excel 2010. Для всех статистических тестов устанавливался пороговый уровень альфа-ошибки $p < 0,05$. Проводились: описательный анализ количественных и порядковых данных с помощью вычисления средних значений, средней ошибки, максимальных и минимальных значений, стандартного отклонения, 95% доверительного интервала для среднего, медианы и интерквартильного размаха; дисперсионный анализ (параметрический t-критерии Стьюдента или непараметрический критерии Манна-Уитни и Вилкоксона); тестирование статистических гипотез с использованием критерия Хи-квадрат; для установления силы и направленности корреляционной связи количественных переменных использовался корреляционный анализ Пирсона, между качественными - ранговый корреляционный анализ Спирмена.

Результаты исследования и их обсуждение

Данная работа убедительно доказала наличие отклонений в процессе становления микробиоты кишечника, ее функциональной активности и взаимосвязи МК с макроорганизмом у детей раннего возраста, рожденных от матерей с ГСД.

На первом этапе нами была проведена сравнительная оценка факторов материнского анамнеза, включая акушерский и течения родов в зависимости от наличия ГСД. Установлено, что 38,8% беременных страдали ожирением, 21,1% - артериальной гипертензией, 60,2% имели гинекологические болезни, 30,3% женщин были с патологией щитовидной железы, что подтвердило ранее известный факт, что ГСД и заболевания щитовидной железы являются одними из самых частых эндокринопатий, встречающихся во время беременности (Carpola A.R. et. al., 2019). При этом у 41,4% женщин беременность протекала на фоне приема препаратов группы «гестаген». Назначение данных препаратов осуществляется женщинам с высоким риском невынашивания беременности и коррелирует, с развитием нервной патологии и обменными нарушениями у потомства. У каждой четвертой матери с ГСД выявлялось многоводие (25,5%), у половины (52,6%) – преэклампсия, что также оказывало неблагоприятное

воздействие на плод, что и подтверждается последними исследованиями (Радзинский В.Е. с соавт., 2018).

Известно, что современные особенности течения, уровень диагностики ГСД у женщин обуславливают изменения статуса здоровья не только матерей, но и новорожденных (Hod M. et al., 2015). Наиболее типичным проявлением неблагоприятного действия ГСД матери на плод является диабетическая фетопатия. Первым проявлением ДФ можно назвать макросомию - превышение массы новорожденного более 90 перцентиля для срока гестации. В свою очередь избыточная масса тела при рождении может служить фактором риска развития метаболических нарушений, таких как ожирение, СД 2 типа и АГ у потомства, этим данным посвящены единичные работы (Лысенко С.Н. с соавт., 2019). Согласно нашим данным, УЗ признаки ДФ плода в третьем триместре были отмечены у 31,3% детей от матерей с ГСД, у 26,1% детей имела место макросомия. В целом, дети, рожденные от матерей с ГСД, имели более высокие показатели антропометрии и индекса Кетле-I при рождении, что соответствует данным исследований последних лет (Дейнега А.С. с соавт., 2021). Все эти признаки были выявлены нами у детей от матерей с ГСД и практически не определялись в КГ (Таблица 1).

Таблица 1 – Состояние детей по степени зрелости при рождении (n =494), n (%), p<0,05

Признак	ГСД, n=399	КГ, n=95
Зрелый ребенок	306 (76,7)	93 (97,9) *
Морфофункциональная незрелость (МФН)	49 (12,3)	2 (2,1) *
МФН сочетанная с макросомией	33 (8,3)	0 (0,0)
МФН сочетанная с гипотрофией	11 (2,7)	0 (0,0)
Итого	399 (100,0)	95 (100,0)

Морфофункциональная незрелость у детей в группе с ГСД, встречалась в 6 раз чаще чем в КГ (49 – 12,3%; 2 - 2,1%; соответственно, p=0,001). При этом она в 4 раза чаще сочеталась с макросомией (33 - 8,3% и 11 - 2,7%) в отличии от детей КГ, что подтверждает неблагоприятное влияние ГСД у матери на развитие плода.

Гипербилирубинемия, как признак ферментативной незрелости организма, у детей, рожденных от матерей с ГСД выявлялась в 3 раза чаще (52 - 13,0%; 4 - 3,8%; соответственно, p=0,007), гипогликемия как следствие гиперинсулинизма - в 9 раз, (72 - 18,1%; 2 - 1,9%; соответственно, p<0,001); ЦД в 3 раза (105 - 26,3%; 9 - 9,6%; соответственно, p=0,0002) чем в КГ. Синдром дыхательных расстройств (РДСН у 17 - 4,3%, ТТН у 36 - 9,0%) встречался только у новорожденных от матерей с ГСД. Врожденные пороки сердца – в 2 раза (65 – 16,4%; 6 – 5,7%; соответственно, p=0,006), среди которых кардиомиопатия, как маркер ДФ встречалась только в группе ГСД (24 – 6,0%). Таким образом, в нашем исследовании подтвердились данные исследований последних лет о неблагоприятном влиянии ГСД на плод (Chen K.Y. et al., 2021).

Доказательством влияния ГСД на соматическое здоровье потомства является проведенное нами динамическое наблюдение за состоянием здоровья детей исследуемых групп на протяжении первых трех лет жизни (Таблица 2).

Таблица 2 – Соматотип наблюдаемых детей (n=184), n (%)

Соматотип	Возраст		
	1 год – 1 год 11мес 29 дней	2года – 2 года 11 мес. 29 дней	Всего
От матерей с гестационным сахарным диабетом, n=134 (%)			
Макросоматотип	37 (27,6)	35 (26,1)	72 (53,7)
Мезосоматотип	28 (20,9)	15 (11,2)	43 (32,1)
Микросоматотип	10 (7,5) *	9 (6,7) *	19 (14,2)
Итого	75 (56,0)	59 (44,0)	134 (100,0)
Контрольная группа, n = 50(%)			
Макросоматотип	13 (26,0) *	5 (10,0) *	18 (36,0) *
Мезосоматотип	15 (30,0)	11 (22,0)	26 (52,0)
Микросоматотип	4 (8,0)	2 (4,0)	6 (12,0)
Итого	32 (64,0)	18 (36,0)	50 (100,0)

Примечание: *- статистически значимое отличие при $p < 0,05$ между группами ГСД и КГ

Было установлено, что у детей от матерей с ГСД на протяжении 3 лет сохранялась тенденция преобладания по частоте макросоматотипа над мезо- и микросоматотипом (37 – 27,6%; 35 – 26,1%; соответственно, $p < 0,02$), избыточной массы тела и ожирения над нормальной массой тела. Тогда как в КГ с возрастом эти тенденции менялись в обратную сторону: уменьшалось количество детей как с макро- так и микросоматотипом (13 - 26,0% и 5 - 10,0%; соответственно, $p=0,03$).

Разброс отношения веса к возрасту (WAZ) относительно среднего значения выше чем 2 стандартных отклонения по Z-score встречался только у детей 1-3 лет, рожденных от матерей с ГСД (20 – 14,9%; 0 – 0,0%; соответственно, $p < 0,001$); также данная группа детей чаще имела повышенное отношение массы тела к росту, в отличие от КГ (40 - 29,8%; 8 – 16,0%; соответственно, $p=0,04$). Таким образом, дети в возрасте от 1 года до 3х лет от матерей с ГСД чаще имели вес, превышающий средние показатели для данного возраста, что соответствует данным последних исследований (Li S. et. al., 2017). В КГ большинство детей было с гармоничным физическим развитием.

Те же закономерности были выявлены при изучении неврологического статуса и когнитивных функций у детей от матерей с ГСД. Так, у детей от матерей с ГСД отмечалось сохранение неврологических нарушений с рождения до 3 лет, проявляющееся: задержкой темпов речевого и психомоторного развития; тиками; синдромом мышечной дистонии; аффективно-респираторными пароксизмами; гиперреактивностью и эписпазмом. В целом неврологическая симптоматика у детей от матерей с ГСД встречалась статистически значимо чаще, чем в КГ (32 – 23,8%; 3 – 6,0%; соответственно, $p=0,003$), что согласуется с данными последних исследований (Daraki V. et. al., 2017). Методом УЗИ было также выявлено, что статистически значимо чаще малые аномалии развития сердца (МАРС) встречались у детей 1-3

лет группы ГСД, чем в КГ (98 – 73,2% и 16 – 32,0%, $p < 0,001$ соответственно), что находит подтверждение в литературных данных последних лет (Depla A.L. et. al., 2021).

Таким образом, дети от матерей с ГСД от рождения до 3 лет подвержены высокому риску срыва процессов адаптации, склонны к высоким показателям физического развития в сторону избыточной массы тела и ожирения, имеют отклонения в неврологическом статусе преимущественно за счет задержки темпов речевого развития и тиков, характеризуются высокой частотой встречаемости ВПС и МАРС, что отражает неблагоприятный исход влияния отягощенного пренатального фона на соматическое здоровье детей раннего возраста, рожденных от матерей с ГСД.

В настоящее время известно, что метаболические нарушения у матери во время беременности могут оказывать влияние и на обменные процессы у ребенка после рождения (Fuka F. et. al., 2020). Так, наличие гипогликемии у новорожденных связано с гипергликемией у матери во время беременности (Domanski G. et. al., 2018). В результате проведенных нами исследований было выявлено, что у новорожденных от матерей с ГСД через 30 минут и 2 часа после рождения гипогликемия встречалась статистически значимо чаще, чем в КГ (30 - 7,5%; 0 – 0,0%; соответственно, $p < 0,01$) и (61 - 15,3%; 3 - 2,9%; соответственно, $p = 0,0004$). Также отмечалось снижение показателей С-пептида относительно референсных значений ($0,4 \pm 0,4$; $0,7 \pm 0,4$; соответственно, $p = 0,01$), и чаще, чем в КГ (146 - 36,6%; 8 - 8,8%; соответственно, $p < 0,01$). Выявленная дисгликоземия свидетельствует о нарушении метаболизма углеводов у новорожденных от матерей с ГСД.

Обращает на себя внимание тот факт, что эти нарушения углеводного обмена сохраняются на протяжении последующих трех лет наблюдения. Так, у детей от матерей с ГСД нарушение углеводного обмена сопровождалось высокими показателями гликированного гемоглобина ($5,0 \pm 0,3$; $4,7 \pm 0,4$; соответственно, $p = 0,001$), средних показателей фруктозамина ($3,0 \pm 0,8$; при норме до 2,9 ммоль/л), отражающих степень постоянного или транзиторного повышения уровня глюкозы в крови. При этом средний показатель С-пептида (показатель выработки инсулина) от матерей с ГСД был ниже референсных значений и показателей в КГ ($0,81 \pm 0,8$; $1,1 \pm 0,8$; соответственно, $p = 0,01$) и по частоте встречался в 2 раза чаще чем в КГ (69 - 51,5%; 12 - 24,0%; соответственно, $p = 0,0006$), что подтвердило высказанное нами выше предположение, что у детей от матерей с ГСД может нарушаться толерантность к глюкозе. Наши результаты согласуются с данными литературы свидетельствующими, что длительное снижение концентрации С-пептида и тенденция к повышению показателей гликемии в сыворотке крови у детей, рожденных от матерей с ГСД, может привести к срыву компенсаторных реакций с последующим формированием инсулинорезистентности (Kawasaki M. et. al., 2018).

Особенности липидного спектра у детей от матерей с ГСД, в настоящее время изучены недостаточно: известно, что показатели липидного обмена в периоде новорожденности соответствуют референсным значениям (Дейнега А.С. с соавт., 2021). Результаты нами проведенных исследований представлены в Таблице 3.

Таблица 3 – Липидограмма сыворотки крови новорожденных (n=494) от матерей с ГСД, M±m

Показатели	ГСД, n=399	КГ n=95	Референсные значения
Общий холестерин сыворотки, ммоль/л	2,4±0,6	2,2±0,4	2,0-4,4
Триглицериды, ммоль/л	1,7±0,7	1,7±0,5	0,3-2,83
Липопротеиды высокой плотности, ммоль/л	0,6±0,2 *	0,9±0,2 *	0,9-2,55
Липопротеиды низкой плотности, ммоль/л	1,0±0,4	1,5±0,3	1,0-4,0
Коэффициент атерогенности	3,0±1,4	3,3±1,3	0,0-4,0

Примечание: *- статистически значимое отличие при $p < 0,05$ между группами ГСД и КГ

Показатели ОХС у новорожденных от матерей с ГСД не превышали референсные значения, однако средние показатели неатерогенной фракции холестерина - ЛПВП сыворотки крови у новорожденных от матерей с ГСД были значимо ниже референсных значений (0,6 ммоль/л при норме от 0,78 ммоль/л) по сравнению с таковыми в КГ (82 - 20,5%; 11 - 11,8%; соответственно, $p=0,027$), тогда как повышенные показатели ЛПНП реже встречались в КГ, чем в ГСД (114 - 28,6%; 38 - 39,7%; соответственно, $p=0,021$). Что может свидетельствовать о нарушении метаболизма липидов в периоде новорожденности у детей от матерей с ГСД. Эти результаты требуют дальнейшего изучения. Таким образом, уже в раннем возрасте у детей от матерей с ГСД наблюдается дислипидемия. В современной литературе такие закономерности изменений липидного обмена описаны у детей только в возрасте от 6 до 12 лет.

При изучении показателей белкового обмена у данной когорты детей была выявлена диспротеинемия обусловленная повышением α -2 глобулинов - превышали референс (12,5% при норме до 11,8%) и γ глобулинов на фоне снижения β -2 глобулинов (2,1% при норме от 3,2%). Учитывая, что основная роль α -2 глобулинов – контроль острофазовых воспалительных реакций, а γ -глобулинов – участие в иммунном ответе, повышение этих фракций белков может указывать на склонность к развитию острофазовых воспалительных реакций с исходом в иммунокомплексные заболевания, в частности СД1. Вероятно, у детей, рожденных от матерей с ГСД, выше риски срыва компенсаторных возможностей иммунной системы, но подтверждения полученных результатов в современной литературе мы не встретили.

Анализ биохимических показателей крови у детей исследуемых групп отклонений от референсных значений не показал. Но у детей 1-3 лет в группе ГСД показатели АЛТ, АСТ, альфа-амилаза и панкреатическая амилаза имели прямую корреляционную связь с массой тела ребенка, а показатель липазы, напротив, обратную с ИМТ. Вероятно, снижение липазы при росте ИМТ свидетельствует о снижении функции поджелудочной железы у детей от матерей с ГСД в раннем возрасте. В КГ показатели АСТ, ЩФ и панкреатической амилазы имели прямо-пропорциональную связь с массой тела, и не отмечалось корреляции липазы с ИМТ. Таким образом, на данном этапе развития детей, рожденных от матерей с ГСД, уже наблюдается дискоординация механизмов регуляции липидного и углеводного обменов.

Наше исследование дает более полное представление об особенностях метаболизма

углеводов, жиров и белков у детей с рождения до 3 лет от матерей с ГСД, что послужит ориентиром специалистам для выявления нарушений метаболизма у данной когорты детей на ранних этапах.

Учитывая выявленные особенности обменных процессов у детей раннего возраста, рожденных от матерей с ГСД, представляло интерес изучить особенности переваривания и всасывания питательных веществ, которые также влияют на рост и развитие ребенка. В нашем исследовании проводился анализ физико-химических свойств кала у исследуемых групп детей. Выявлено, что у новорожденных от матерей с ГСД статистически значимо чаще, чем в КГ встречались: зловонный запах кала (68 - 100,0%; 15 - 45,5%; соответственно, $p < 0,001$), повышенное содержание слизи (58 - 85,3%; 9 - 27,3%; соответственно, $p < 0,001$) и лейкоцитов (50 - 73,5%; 6 - 18,2%; соответственно, $p < 0,001$). Что может указывать на склонность к воспалительному процессу в слизистой оболочке кишечника у детей с рождения в группе ГСД. Кроме этого, у новорожденных из группы ГСД максимальное содержание углеводов кала было выше и встречалось значимо чаще, чем в КГ (17 - 25,0%; 3 - 9,1%; соответственно, $p = 0,048$), что при нормальных значениях панкреатической эластазы может свидетельствовать в пользу малассимиляции и малабсорбции у данной когорты детей.

Подтверждением выдвинутого предположения послужил проведенный нами корреляционный анализ функциональной активности ферментативной системы макроорганизма и метаболической активности микробиоценоза: обнаружено, что индигенная микробиота кишечника новорожденных от матерей с ГСД уступает условно-патогенной в процессах утилизации углеводов. А как известно, микробное сообщество может влиять на изменения pH кишечного содержимого и другие процессы химизма, препятствуя инактивации ферментов, что в результате приводит к изменению гомеостаза ферментативных систем и нарушению процессов всасывания и переваривания пищи (Valle-Martos R. et. al., 2021).

Учитывая, что микроорганизмы кишечника участвуют во многих жизненно важных регуляторных процессах макроорганизма и могут влиять на состояние здоровья и развития детей первых трех лет жизни нами была поставлена задача определить взаимосвязь преморбидного фона с особенностями МК (Рисунок 2).

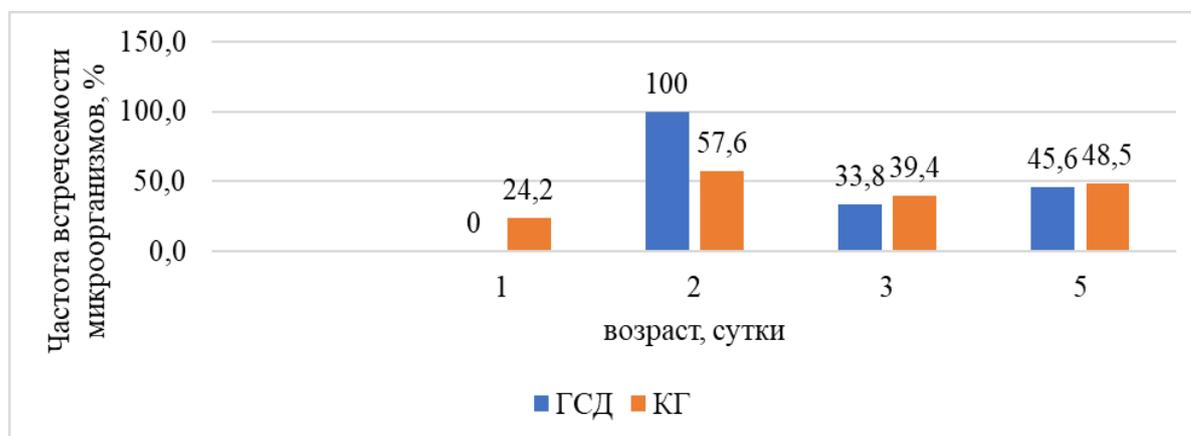
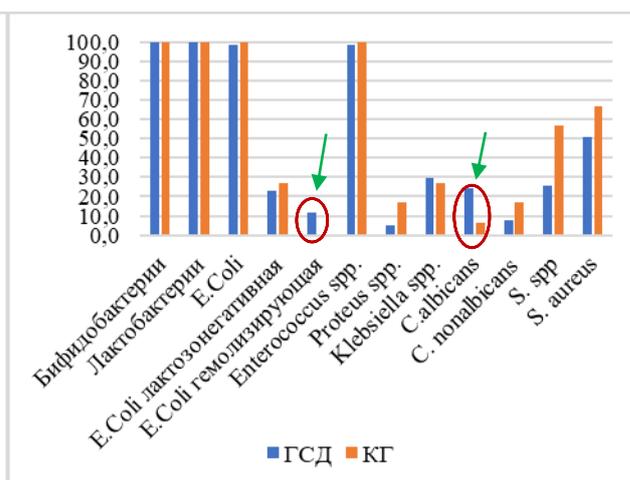
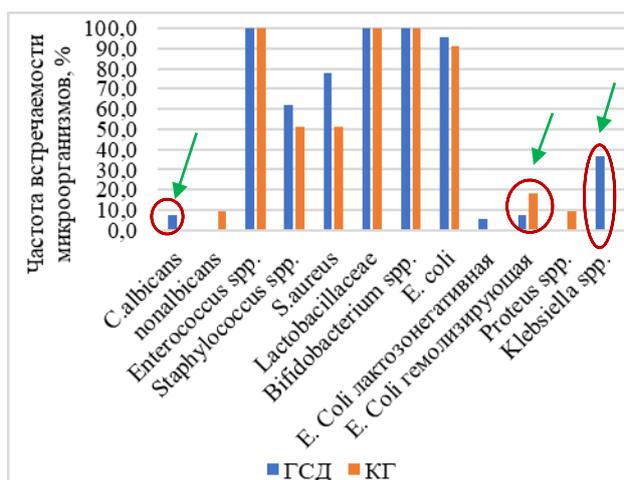


Рисунок 2 - Становление МК в первые 5 дней жизни у детей, исследуемых групп, %

Было выявлено, что у новорожденных от матерей с ГСД микроорганизмы начинают активно заселять кишечник только на 2-е сутки жизни, в отличие от КГ, где процесс заселения начинается с 1-го дня жизни (ГСД 0 - 0,0%; КГ 8 - 24,2%; $p < 0,01$). Но к 5-му дню жизни показатели заселения кишечника микроорганизмами сравниваются.

Для изучения особенностей становления кишечного микробиома у детей раннего возраста исследуемых групп был проведен анализ качественного состава МК используя стандартный бактериологический метод исследования кала на дисбактериоз и метод NGS секвенирования 16S рРНК. Было выявлено, что результаты стандартного бактериологического метода уступают по видовой и количественной характеристике микробиома кишечника перед секвенированием 16S рРНК. Так, стандартным бактериологическим методом исследования кала значимо чаще у новорожденных исследуемых групп выявлялись представители просветной МК, обладающей способностью к росту на питательных средах: бактерии типа *Proteobacteria* (класс Гамма-протеобактерии, семейство Энтеробактерий: кишечная палочка, клебсиелла, протей), бактерии типа *Firmicutes* (класс Бациллы, семейства: Стафилококки, Энтерококки, Лактобациллы), бактерии типа *Actinobacteria* (класс Актинобактерии, семейство Бифидобактерии). Кроме того, выявлено характерное для первых дней жизни преобладание кишечной палочки, энтерококков и стафилококков. В группе ГСД и КГ также выявлена *E. Coli* продуцирующая гемолизины в высоком титре 8 Lg КОЕ/г . Известно, что гемолизирующая кишечная палочка в норме должна выявляться у детей с рождения и до года, с тенденцией к уменьшению с возрастом (Николаева И.В. с соавт., 2018). Полученные данные согласуются с опубликованными научными исследованиями (Sakanaka M. et al., 2019).

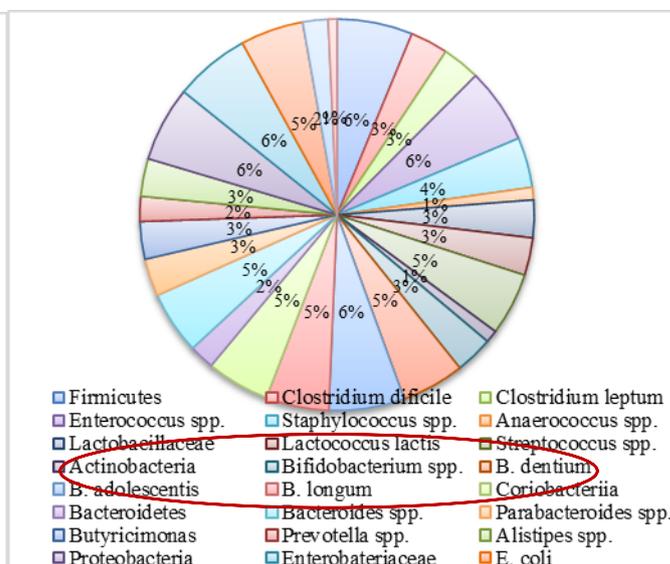
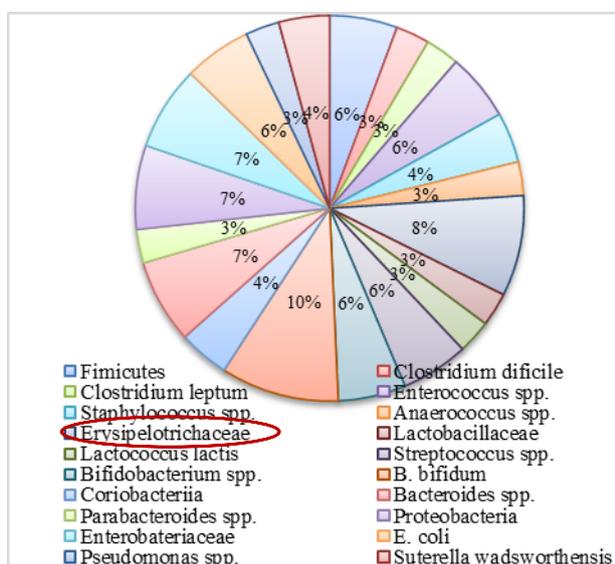
Известно, что стандартным бактериологическим методом возможно определить только около 20% микроорганизмов от всего микробиома, заселяющего кишечник. Так, стандартным бактериологическим методом у новорожденных от матерей с ГСД выявлены возбудители кандидоза - *Candida albicans* и прямые антагонисты лактобактерий - *Klebsiella* spp. Что может оказывать влияние на нарушение процессов становления МК у данной когорты детей в динамике до 3 лет: доминирование культивируемых бактерий - комменсалов с наиболее выраженными болезнетворными свойствами (кишечная палочка, продуцирующая гемолизины - в норме подавляется к 3 годам, и *Candida albicans*), в отличие от КГ, где происходит гармоничное становление МК (Sakanaka M. et al., 2019). Но представление видов некультивируемых микроорганизмов при стандартном бактериологическом методе исследования МК уступало методу NGS секвенирования 16S рРНК, которое позволило оценить видовой состав не только культивируемой, но и некультивируемой МК с периода новорожденности до 3 лет (Рисунок 3 и 4).



3а

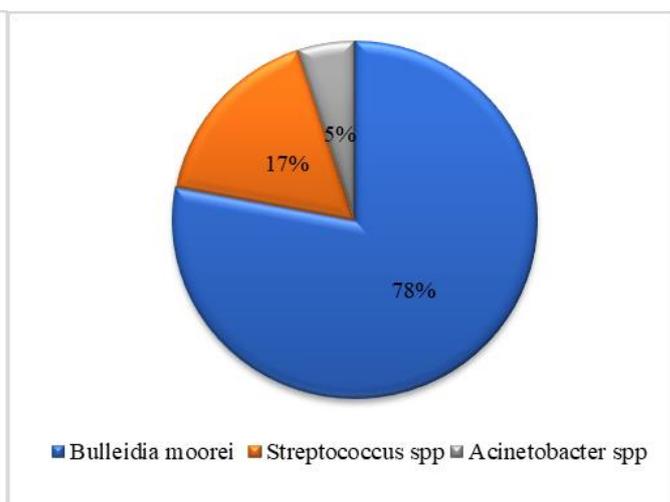
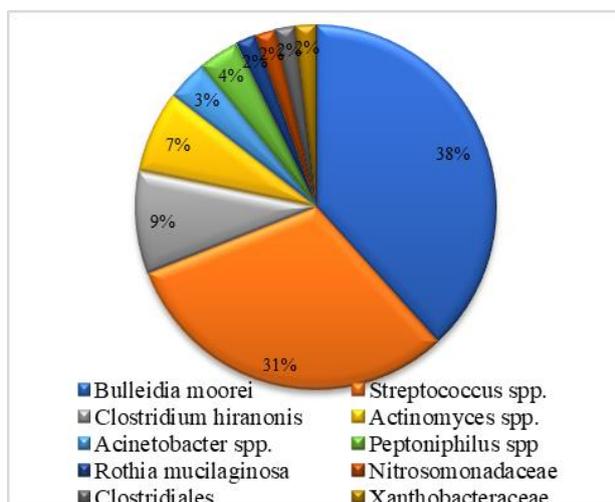
3б

Рисунок 3 – МК стандартным бактериологическим методом у новорожденных (а) и детей 1-3 лет (б), исследуемых групп



4а

4б



4с

4д

Рисунок 4 - МК методом секвенирования 16S рРНК у новорожденных от матерей с ГСД (а), новорожденных КГ (б), детей 1-3 лет от матерей с ГСД (с), детей 1-3 лет КГ (д)

Согласно результатам NGS секвенирования 16S рРНК в 1-й день жизни МК у детей от матерей с ГСД, в отличие от КГ, характеризуется обеднением типа *Actinobacteria* (5 – 7,4%; 7 – 21,2%; соответственно, $p=0,04$) и рода бактерий *Bifidobacterium* spp. (29 – 42,6%; 24 – 72,7%; $p=0,004$). При этом в КГ выявлен микробиологический пейзаж, характерный для нормального биоценоза у новорожденных: *B. Dentium* (3-9,1%; 4,9 LgКОЕ/г), *B. Adolescentis* (9-27,3%; 6,2 LgКОЕ/г), *B. Longum* (6-18,2%; 4,9 LgКОЕ/г). Интенсивность колонизации кишечника была ниже у детей из группы ГСД, чем в КГ для *Lactobacillaceae*, *Enterococcus* spp, *Staphylococcus* spp., *Anaerococcus* spp преобладающие в норме в первые сутки после рождения. Что характеризует снижение темпов заселения микробиома кишечника у детей данной группы в первые сутки после рождения ребенка.

На 2-й день жизни и у новорожденных от матерей с ГСД и в КГ выявлен равнозначный рост *E. Coli*, встречающийся на данном этапе становления МК в норме. Вероятно, за счет роста *E. Coli* в данный период происходит выравнивание показателей заселения кишечника у детей от матерей с ГСД ко 2-му дню жизни.

К 5-му дню жизни у здоровых детей МК должен быть широко представлен уже не только факультативно-анаэробными микроорганизмами, но и облигатными анаэробами. Но у новорожденных от матерей с ГСД статистически значимо реже встречаются *Bacteroides* spp. и *Parabacteroides* spp., чем в КГ (20 – 29,4%; 18 – 54,5%; $p=0,01$) и (14 – 20,6%; 15 – 45,5%; соответственно, $p=0,01$). В свою очередь только в группе ГСД были выделены *Erysipelotrichaceae*, которые отрицательно влияют на метаболизм липидов и вызывают ожирение (Zhao L. A et al., 2018), и *Suterella wadsworthensis*, обладающая провоспалительной способностью (Niipala K. et al., 2016). Таким образом, у новорожденных от матерей с ГСД нарушен баланс между бактериями, заселяющими кишечник в сторону преобладания микроорганизмов, способствующих формированию патологических процессов.

Несмотря на то, что у детей 1-3 лет жизни закономерные для микробного сообщества в данном возрасте *Actinobacteria* и *Firmicutes* являлись доминирующими типами бактерий, однако у детей от матерей с ГСД сохранялась тенденция к снижению относительной представленности *Actinobacteria* по отношению к *Firmicutes* и сопровождалась высокой степенью биоразнообразия МК за счет интенсивного роста условно-патогенных бактерий, по сравнению с таковой в КГ. Так, у детей 1-3 лет от матерей с ГСД было выявлено 10, тогда как в КГ – только 3 преобладающих вида бактерий (Рисунок 4с и 4d). Несмотря на то, что доминирующим видом в обеих исследуемых группах является *Bulleidia moorei*, однако ее относительная представленность была ниже у детей от матерей с ГСД, чем в КГ (20,98 Lg/КОЕ; 45,8 Lg/КОЕ; соответственно, $p<0,01$). В то же самое время в группе ГСД по сравнению с КГ были значимо повышены *Clostridium hiranonis*, *Actinomyces* spp., *Coprococcus catus*, *Blautia producta* и *Veillonellaceae*. Последние являются сапрофитами человека, и при определенных условиях, в том числе при нарушении биопленки кишечника, могут вызывать воспалительные процессы в организме (Gajdacs M. et al., 2020). В свою очередь *Veillonellaceae* также могут конкурировать за место в бактериальной пленке с патогенными бактериями в борьбе за субстрат и производить пропионовую кислоту, а *Coprococcus catus* обладает противовоспалительными свойствами

(Marchandin H. et al., 2010). Такие закономерности становления микробиоценоза кишечника у детей от матерей с ГСД с одной стороны указывают на постоянно присутствующие компенсаторные механизмы, способствующие формированию микробиома у данной когорты детей, с другой – не вызывает сомнения прогрессирующее течение дисбиотических изменений, от периода новорожденности до 3 лет у детей, родившихся от матерей с ГСД, что может служить предикторами развития патологических процессов в организме ребенка в целом.

При изучении метаболической способности МК вышеизложенное предположение подтвердилось. Нами выявлено, что у новорожденных от матерей с ГСД статистически значимо выше было среднее значение изокапроновой кислоты в кале, чем у новорожденных из КГ (0,11 ммоль/г; 0,04 ммоль/г; соответственно, $p < 0,01$), что свидетельствует о неспособности МК детей от матерей с ГСД утилизировать тяжелые формы КЦЖК, накапливая их повреждающий эффект в периоде новорожденности. Показатели КЦЖК в возрасте 1-3 лет сохранили эту тенденцию (Таблица 4).

Таблица 4 – Активность микробиома кишечника у детей исследуемых групп (n= 206) по результатам биохимического исследования кала, n (%)

Показатель	ГСД		КГ	
	0-29 дней n=68	1– 3г. n=75	0-29 дней n=33	1– 3г. n=30
Суммарная концентрация КЦЖК	27 (39,7)	59 (78,7) *	14 (42,4)	18 (60,0)
Структурный индекс	24 (35,3) *	58 (77,3)	2(6,1)	18 (60,0)
Индекс изокислот	32 (47,1)	41 (54,7)	12 (36,4)	18 (60,0)
Концентрация масляной кислоты	24 (35,3) *	63 (84,0)	5 (15,2)	21 (70,0)
Соотношение уксусной: пропионовой: масляной кислот				
Уксусная кислота	21 (30,9) *	56 (74,7)	2 (6,1)	18 (60,0)
Пропионовая кислота	29 (42,6) *	64 (85,3)	5 (15,2)	21 (60,0)
Масляная кислота	20 (29,4)	48 (64,0)	7 (21,2)	16 (53,3)

Примечание: *- статистически значимое отличие при $p < 0,05$ между группами ГСД и КГ

Концентрация масляной (24 - 35,3%; 5 - 15,2%; соответственно, $p=0,028$), уксусной и пропионовой (29 - 42,6%; 5 - 15,2%; соответственно $p=0,005$) кислот и их соотношения (21 - 30,9%; 2 - 6,1%; соответственно, $p < 0,01$) в пределах референсных значений статистически значимо чаще встречались у новорожденных от матерей с ГСД, в отличие от КГ, что также можно объяснить высокой активностью условно-патогенной флоры. Однако эти компенсаторные механизмы нельзя считать благоприятными, поскольку помимо положительных свойств пропионовой кислоты, она может способствовать избыточному накоплению воды в просвете кишечника и повышать проницаемость кишечной стенки для патогенов и токсических веществ (Vorobjeva L.I. et. al., 2008). В возрасте 1-3 лет суммарный уровень КЦЖК характерный для активно функционирующей микробиоты также встречается

статистически значимо чаще у детей от матерей с ГСД, чем в КГ (59 - 78,7%; 18 - 60,0%; соответственно, $p=0,04$). Что свидетельствует о сохранении высокой метаболической активности МК у детей от матерей с ГСД с рождения до 3 лет преимущественно за счет условно-патогенной и патогенной микрофлоры. Наши данные коррелируют с исследованиями, проведенными отечественными авторами, указывающими на высокую функциональную активность микробиома кишечника (ФАМК) при патологических состояниях макроорганизма (Затевалов А.М. с соавт, 2017), что подтверждает неблагоприятный прогноз повышения активности МК у детей от матерей с ГСД из-за декомпенсации механизмов регуляции состава микробиома. Результаты полученных исследований были подтверждены расчетом корреляционных связей (Рисунок 5).

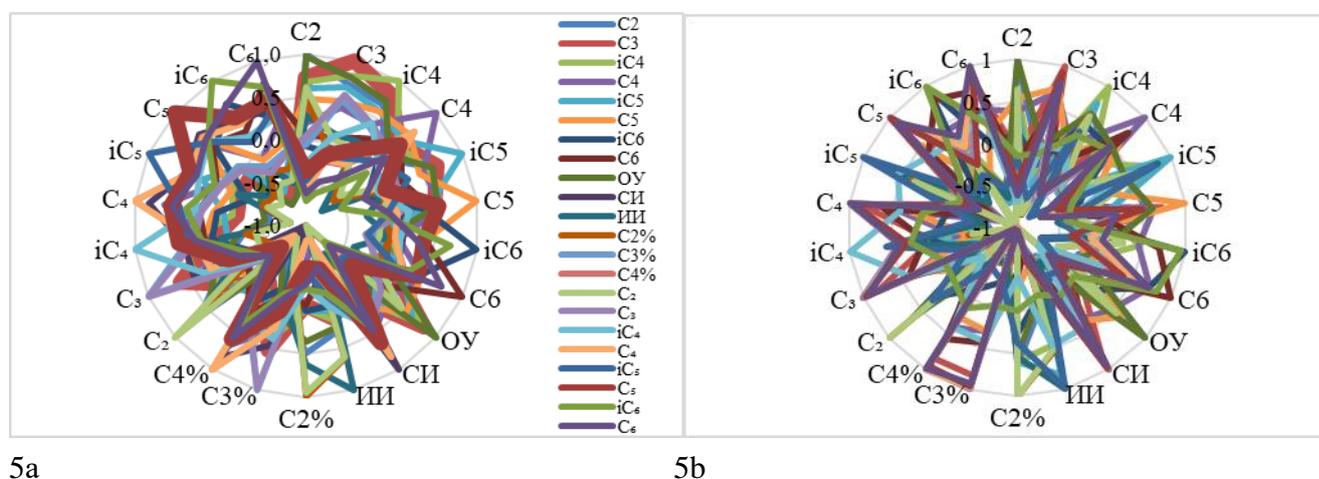
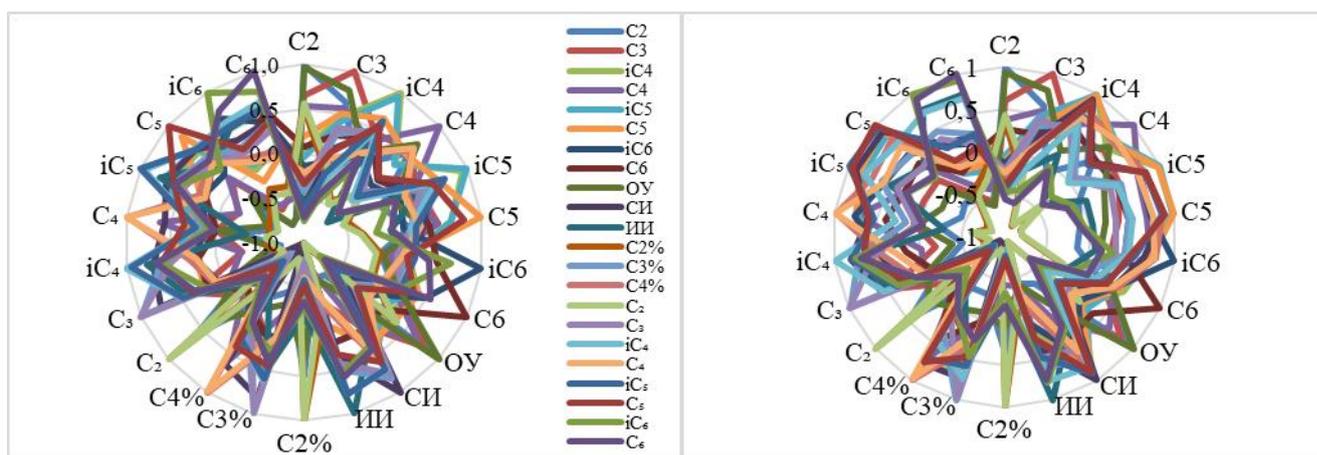


Рисунок 5 – Корреляционный анализ показателей ФАМК у новорожденных от матерей с ГСД (а), новорожденных КГ (б)

Корреляционный анализ метаболической активности МК (Рисунок 5) показал, что у новорожденных от матерей с ГСД отмечается высокая функциональная активность микробиоты кишечника хаотичной направленности, и нет взаимной корреляции между уксусной и масляной кислотами – основными КЦЖК, что не отвечает законам нормобиоценоза и может приводить к усугублению микробных нарушений у данной когорты детей и повышенным рискам срыва процессов адаптации.

Обращал на себя внимание тот факт, что при одновременном росте протеолитически активных микроорганизмов, индекс изо кислот обратно коррелировал с масляной и капроновой кислотами, масляная кислота и относительная представленность всех КЦЖК в кале имели прямую корреляционную связь со структурным индексом, что в целом отвечало нормальным законам метаболизма МК и не отличался от показателей в КГ. Последнее, как представлено выше, указывало на формирование компенсаторных механизмов для взаимного сосуществования с макроорганизмом. Однако длительно такое микробное сообщество не могло обеспечивать нормальный уровень продукции КЦЖК, а срыв компенсаторных механизмов вновь усугублял дисбиотические нарушения (Рисунок 6).



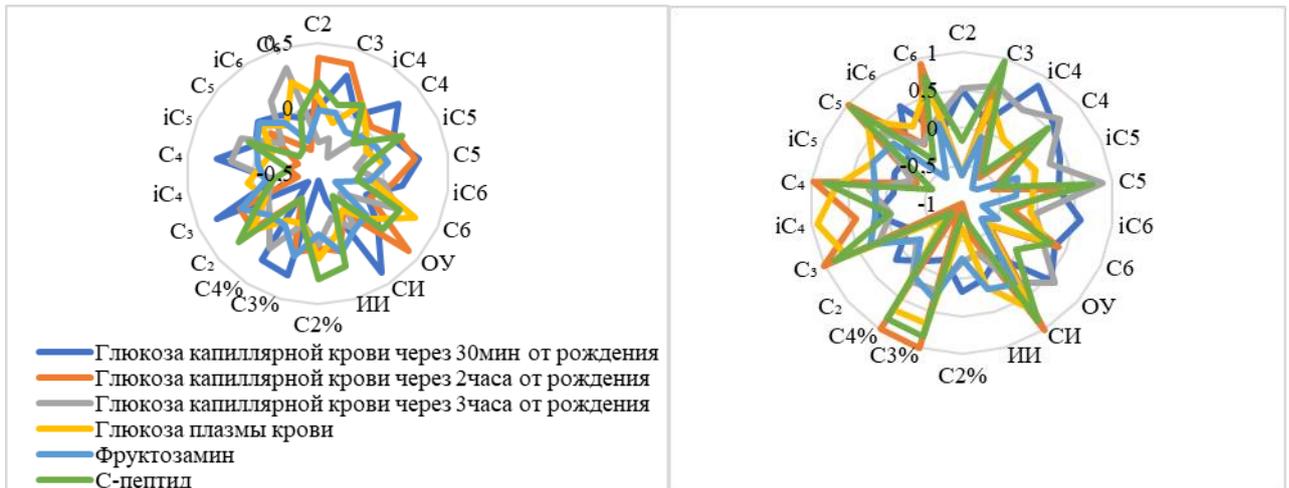
ба

бб

Рисунок 6 – Корреляционный анализ показателей ФАМК у детей 1-3 лет от матерей с ГСД (а), детей 1-3 лет КГ (б)

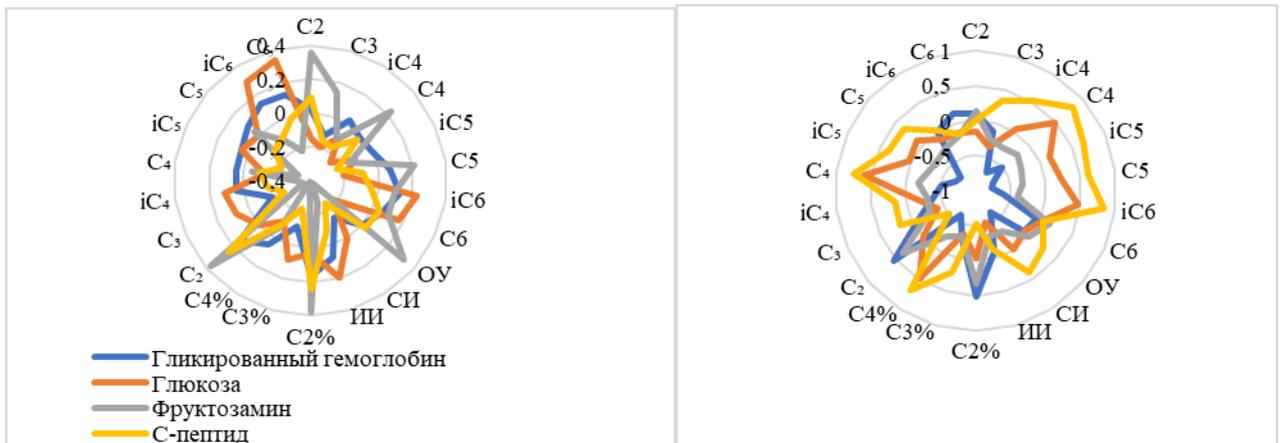
В возрасте от 1 года до 3 лет, несмотря на сформировавшийся дисбиоз и высокую активность протеолитических бактерий, выявлены корреляции между показателями метаболической активности МК идентичные таковым КГ. Таким образом, у детей от матерей с ГСД, вероятно, сохраняются компенсаторные пути регуляции гомеостаза внутри макроорганизма с периода новорожденности до 3 лет. Но в связи с высокой активностью условно-патогенной микрофлоры данные пути могут носить непродолжительный характер, что приведет к декомпенсации и усугублению дисбиотических изменений МК. В возрасте 1-3 лет выявлены значимые корреляционные связи концентрации КЦЖК с Firmicutes, а также Bacteroidetes и Proteobacteria. У детей от матерей с ГСД при увеличении Firmicutes отмечается рост пропионовой кислоты (в КГ прямая корреляция Firmicutes с уксусной кислотой и обратная со структурным индексом); при этом увеличение относительной представленности Bacteroidetes связано со снижением структурного индекса; увеличение относительной представленности Proteobacteria - со снижением концентрации валериановой, изовалериановой кислот и структурного индекса. То есть вновь выявлены аналогичные пути взаимосвязи внутри микробного сообщества между ГСД и КГ, но у детей, рожденных от матерей с ГСД не обнаружены пути регуляции состава именно патогенной микрофлоры кишечника, в отличие от КГ. Таким образом, мы вновь подтвердили наличие нарушения внутренней регуляции метаболизма микробиома кишечника у детей от матерей с ГСД.

При сопоставлении полученных данных ФАМК с показателями углеводного обмена у новорожденных от матерей с ГСД была выявлена значимая прямая корреляционная связь с общим уровнем КЦЖК. Что может свидетельствовать об активном участии как индигенной, так и патогенной флоры в регуляции углеводного обмена у данной когорты детей, в отличие от детей КГ, где участвует только индигенная микробиота, обеспечивая полноценное поддержание баланса метаболизма углеводов (Рисунок 7а и 7б).



7а

7б



7с

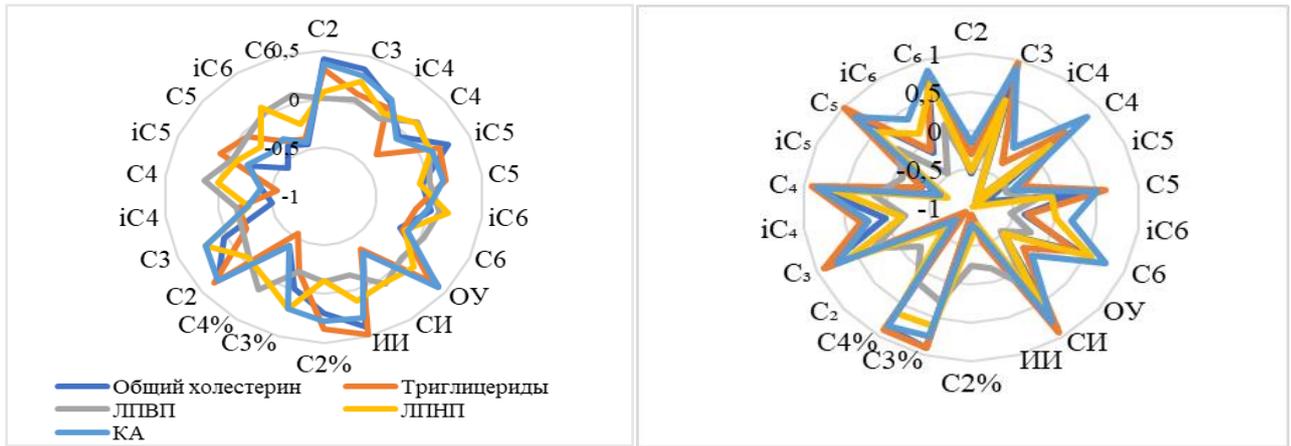
7д

Рисунок 7 – Влияние ФАМК на углеводный обмен у новорожденных от матерей с ГСД (а), новорожденных КГ (б), детей 1-3 лет от матерей с ГСД (с), детей 1-3 лет КГ (д)

В возрасте от 1 года до 3 лет (Рисунок 7с и 7д) у детей от матерей с ГСД выражены связи КЦЖК, образующиеся в результате активности протеолитической микробиоты кишечника с глюкозой крови и фруктозамин, что демонстрирует менее надежную систему поддержания гомеостаза углеводного обмена при помощи МК у детей от матерей с ГСД, в отличие от КГ, где КЦЖК индигенной микробиоты коррелируют с глюкозой, гликированным гемоглобином и С-пептидом.

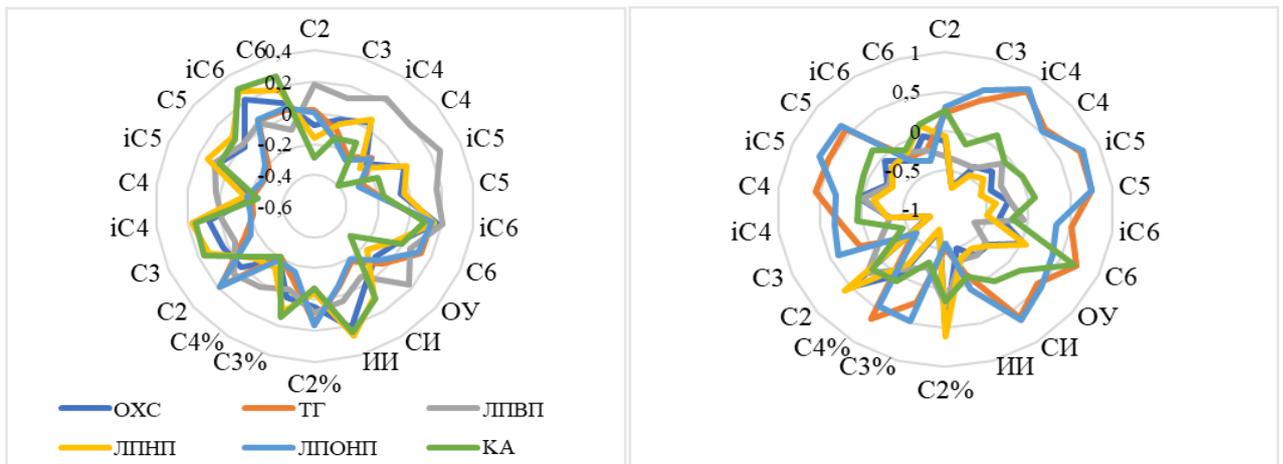
Также у детей от матерей с ГСД выявлена прямая корреляционная связь фруктозамина с *Proteobacteria*, в отличие от КГ - *Verrucomicrobia*, улучшающих функцию кишечного барьера.

Корреляционный анализ ФАМК и показателей липидного обмена у детей исследуемых групп представлен на Рисунке 8.



8a

8b



8c

8d

Рисунок 8 – Влияние ФАМК на липидный обмен у новорожденных от матерей с ГСД (а), новорожденных КГ (b), детей 1-3 лет от матерей с ГСД (c), детей 1-3 лет КГ (d)

Показатели жирового обмена в периоде новорожденности у детей от матерей с ГСД связаны с повышением КА при усилении протеолитической активности МК, в отличие от новорожденных из КГ, у которых при активизации протеолитической микрофлоры в организме снижается уровень липидов, что может свидетельствовать о наличии защитных процессов регуляции макроорганизмом МК. Но в возрасте 1-3 лет выявлены альтернативные пути взаимосвязи МК и обменными процессами в виде снижения КА крови при повышении активности микробиома. Однако повышение общей активности дисбиотичного МК, в свою очередь, ведет к активизации протеолитической микробиоты и повышению КА, образуя замкнутый порочный круг. А учитывая наличие исходной дислипидемии у детей от матерей с ГСД и невозможность компенсировать гиперхолестеринемию, данные особенности регуляции липидного обмена могут привести к отложению жиров в депо, приводящее в последующем к избыточной массе тела и ожирению. Последнее подтверждено прямой корреляционной связью индекса массы тела с *Proteobacteria*.

На основании полученных данных был разработан алгоритм ранней диагностики и профилактики метаболических нарушений у детей раннего возраста от матерей с ГСД (Рисунок 9).

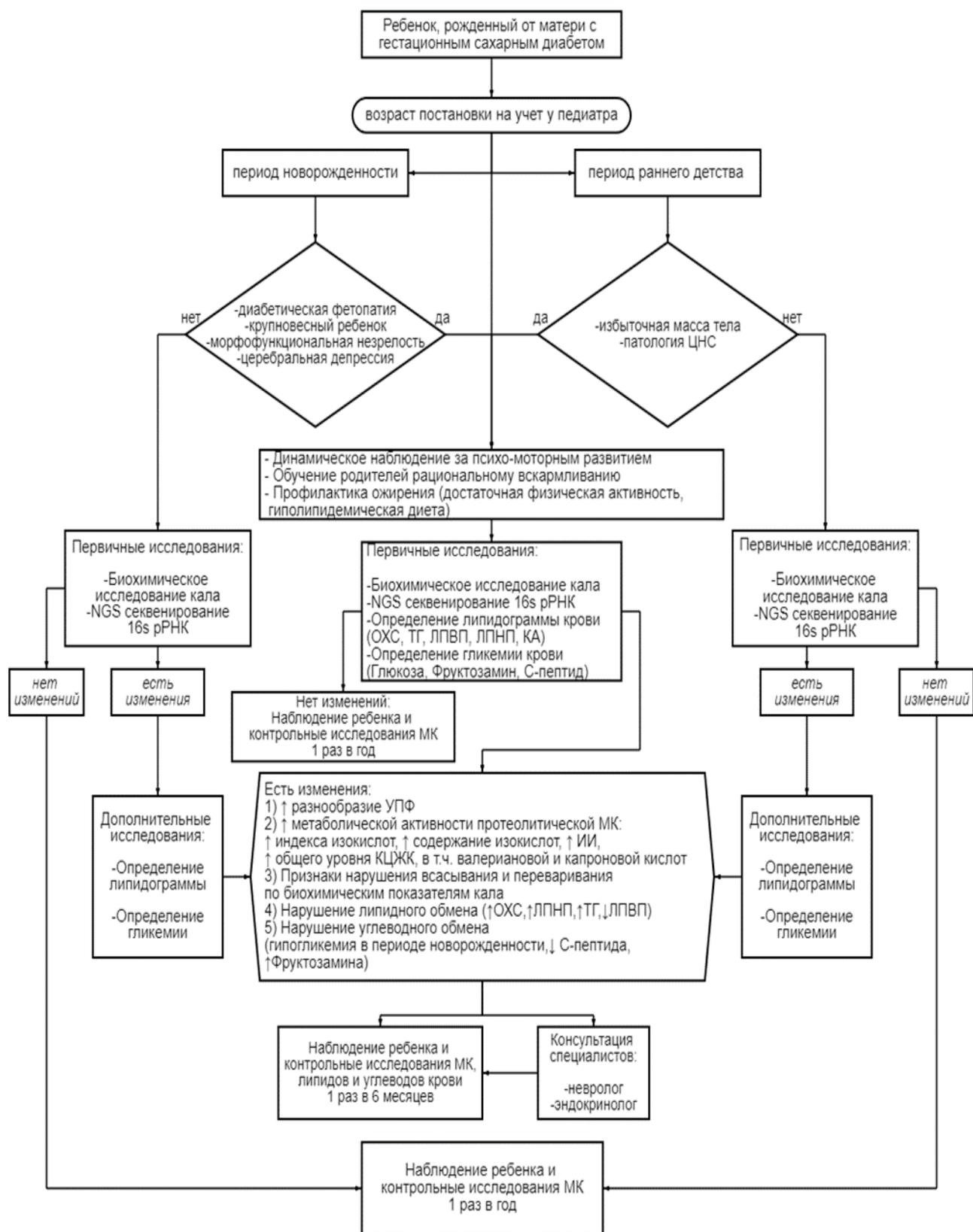


Рисунок 9 – Алгоритм диагностики и профилактики метаболических нарушений у детей раннего возраста от матерей с гестационным сахарным диабетом

ВЫВОДЫ

1. Новорожденные от матерей с ГСД имеют высокий риск срыва адаптации в раннем неонатальном периоде за счет диабетической фетопатии (30,8%), макросомии (26,1%), морфофункциональной незрелости (23,3%), поражения нервной (26,3%) и дыхательной (13,3%) систем. В возрасте 1- 3х лет у детей от матерей с гестационным сахарным диабетом имеют склонность к избыточной массе тела (23,1%), паратрофии, проявлению неврологической симптоматики со стороны центральной нервной системы (23,8%).

2. Отклонения в соматическом статусе сопровождаются дислипидемией (за счет тенденции к повышению холестерина сыворотки крови и нарушения соотношения его фракций), диспротеинемией (за счет повышения α -2 и снижения β -2 глобулинов) и нарушением углеводного обмена (гипогликемия в периоде новорожденности, с последующей тенденцией к повышению показателей гликемии в сыворотке крови к 1-3 годам, с более высокими показателями фруктозамина и низкими С-пептида) что может свидетельствовать о склонности к развитию инсулинорезистентности на фоне повышенной протеолитической активности микробиома кишечника.

3. У детей, рожденных от матерей с ГСД, выявлено высокое биоразнообразие микробиома за счет условно-патогенной флоры с потенциально патогенными свойствами и сапрофитов, имеющее в своем составе скудную представленность индигенной микробиоты. Данный дисбиоз сохраняется у детей от матерей с гестационным сахарным диабетом с рождения до 3 лет, в отличие от детей контрольной группы, где микробиом является стабильным и отвечает всем законам становления здорового микробиома кишечника.

4. Метаболическая способность микробиома кишечника у детей от матерей с ГСД с рождения до 3 лет отличается высокой протеолитической активностью за счет условно-патогенной и патогенной флоры (представители Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria), в отличие от детей от контрольной группы (индигенные представители Firmicutes и Actinobacteria), что прогностически неблагоприятно в связи с риском увеличения продукции токсических веществ и нарушением целостности кишечного барьера.

5. При сравнении используемых методов для оценки видового состава микробиома кишечника преимущество имеет метод NGS-секвенирования 16S рРНК перед стандартным бактериологическим методом исследования, поскольку позволяет выявить представителей не только просветной кишечной микробиоты, но и пристеночной, характеризуя качественный состав некультивируемых микроорганизмов.

6. У детей, рожденных от матерей с гестационным сахарным диабетом, качественные и количественные изменения микробиома кишечника с активацией протеолитических и патогенных свойств условно-патогенной флоры являются предикторами развития

метаболического синдрома, манифестации сахарного диабета 2 типа, ожирения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для ранней диагностики и своевременной коррекции нарушений микробиома кишечника у детей раннего возраста, рожденных от матерей с ГСД, необходимо проводить биохимическое исследование кала для оценки его метаболической активности и полногеномное NGS-секвенирование 16S рРНК для оценки качественного состава.

2. С целью профилактики дисбиотических и метаболических нарушений у детей, рожденных от матерей с гестационным сахарным диабетом врачам первичного звена здравоохранения необходимо следовать разработанному алгоритму диагностики и профилактики метаболических нарушений.

3. Детям раннего возраста, рожденным от матерей с ГСД, рекомендовано сохранять грудное вскармливание до 1 года, проводить рациональное введение блюд прикорма на 1м году жизни, соблюдая приверженность гиполипидемической диете с раннего возраста.

4. При выявлении нарушения углеводного и/или липидного обмена у детей от матерей с ГСД необходимо наблюдение невролога и эндокринолога на протяжении 3 лет.

ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Маяцкая, Т.** Гестационный сахарный диабет в условиях пандемии ожирения: особенности патогенеза / О. Папышева, Г. Котайш, С. Сидорова, Е. Третьякова, Е. Девятова // **Врач.** - 2019. - №30. - С. 27.

2. **Маяцкая, Т.А.** Здоровье новорожденных от матерей с гестационным сахарным диабетом / О.В. Папышева, Н.М. Старцева, И.В. Савенкова, Г.А. Аракелян, О.А. Попова // **Доктор.Ру.** - 2019. - № 7. - С. 12.

3. **Маяцкая, Т.А.** Микробиота кишечника у детей, рожденных от матерей с сахарным диабетом / Л.А. Харитоновна, О.В. Папышева, Г.А. Котайш // **Педиатрия.** – 2019. – № 98. – С. 139.

4. **Маяцкая, Т.А.** Состояние микробиоты кишечника при дислипидемии у детей / Л.А. Харитоновна, О.В. Папышева, Г.А. Котайш // **Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.** - 2019. – № 11. – С. 171.

5. **Маяцкая, Т.А.** Становление микробиоценоза кишечника у детей, рожденных от матерей с гестационным сахарным диабетом / Т.А. Маяцкая, Л.А. Харитоновна, О.В. Папышева, А.М. Затевалов // **Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.** – 2021 - № 185 – С. 96.

6. **Маяцкая, Т.А.** Серологический анализ протеома детей, рожденных от матерей с гестационным или второго типа сахарным диабетом / О.В. Папышева, А.Т. Копылов, А.Л. Кайшева, Л.А. Харитоновна, Г.А. Котайш, А.А. Крашенинникова, И.Е. Грибова, С.Г. Морозов //

Вопросы практической педиатрии. – 2021. – № 16. – С. 19.

7. **Маяцкая, Т.А.** Отдаленные неврологические последствия у детей, рожденных от матерей с гестационным сахарным диабетом / О.В. Папышева, С.Г. Морозов, И.Е. Грибова, Л.В. Богомаз, И.А. Захарова, Л.А. Харитоновна // **Вопросы практической педиатрии (Клиническая практика в педиатрии).** – 2022. – № 17. – С. 23.

8. **Mayatskaya, T.** Association of Proteins Modulating Immune Response and Insulin Clearance During Gestation with Antenatal Complications in Patients with Gestational or Type 2 Diabetes Mellitus / T. Kopylov, A. Kaysheva, O. Papysheva, I. Gribova, G. Kotaysch, L. Kharitonova, A. Krashennikova, S. Morozov // *Cells.* – 2020. – 9. – P. 1032

9. **Маяцкая, Т.А.** Особенности липидного спектра у новорожденных от матерей с сахарным диабетом / О.В. Папышева // *Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение* // 2019. – № 7. – С. 41.

10. **Маяцкая, Т.А.** Генетические аспекты развития диабетической фетопатии / О.В. Папышева // *Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение.* – 2019. – № 7. – С. 63.

11. **Маяцкая, Т.А.** Оптимальные сроки родоразрешения при гестационном диабете: проблема, требующая консенсусного решения / О.В. Папышева, Л.Н. Есипова, Н.М. Старцева, О.Б. Лукановская, И.В. Савенкова, Г.А. Аракелян, Г.А. Котайш // *Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение.* – 2019. – № 7. – С. 122.

12. **Маяцкая, Т.А.** Дислипидемии у новорожденных от матерей с нарушениями углеводного обмена / Л.А. Харитоновна, О.В. Папышева, Л.В. Богомаз, Д.А. Шурыгина // *Гастроэнтерология Санкт-Петербурга.* – 2019. – № 2. – С. 46.

13. **Mayatskaya, T.** Molecular pathophysiology of diabetes mellitus during pregnancy with antenatal complications / A. Kopylov, O. Papysheva, I. Gribova, G. Kotaysch, L. Kharitonova, E. Sokerina, A. Kaysheva, S. Morozov // *Scientific Reports.* – 2020. – 19641

14. **Маяцкая, Т.А.** Особенности новорожденных от матерей с гестационным сахарным диабетом и прегестационным ожирением / Г.А. Аракелян, А.А. Оразмурадов, И.В. Бекбаева, Г.А. Котайш // *Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение.* – 2020. – № 8. – С. 24.

15. **Маяцкая, Т.А.** Функциональная активность и особенности становления микробиома кишечника у детей, рожденных от матерей с гестационным сахарным диабетом / Л. А. Харитоновна, О. В. Папышева // *Высшая школа: научные исследования: материалы Межвузовского международного конгресса.* – 2021. – С. 92-103.

16. **Mayatskaya, T.A.** Intestinal microbiome activity and formation in children born from mothers with gestational diabetes mellitus / K.I. Grigoryev, L.A. Kharitonova, O.V. Papysheva, S.G. Morozov, A.M. Zatevalov // *EC Gastroenterology and Digestive System* 9.1. – 2022. – P. 29-36.

17. **Маяцкая, Т.А.** Способ выявления диабетической фетопатии плода / О.В. Папышева, С.Г. Морозов, Г.А. Котайш, А.Л. Кайшева, А.Т. Копылов, Л.А. Харитоновна, Д.С. Богомаз, И.Е. Грибова. **Патент на изобретение № 2742801 от 10.02.21.**

18. **Маяцкая, Т.А.** Способ выявления сахарного диабета первого типа / О.В. Папышева, С.Г. Морозов, Г.А. Котайш, А.Л. Кайшева, А.Т. Копылов, Л.А. Харитоновна, Д.С. Богомаз, И.Е. Грибова, Е.Н. Сокерина. **Патент на изобретение № 2752372 от 26.07.21.**

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

16s рРНК – субъединица рибосомальной рибонуклеиновой кислоты	АЛТ - аланинаминотрансфераза
NGS секвенирование – секвенирование нового поколения	АСТ - аспаратаминотрансфераза
С2 – концентрация уксусной кислоты в кале	ВПС – врожденный порок сердца
С ₂ - относительная представленность концентрации уксусной кислоты в кале	ГСД – гестационный сахарный диабет
С2% - доля уксусной кислоты в соотношении уксусная: пропионовая: масляная	ДФ – диабетическая фетопатия
С3 – концентрация пропионовой кислоты в кале	ЗПМР – задержка психомоторного развития
С ₃ - относительная представленность концентрации пропионовой кислоты в кале	ЗРР – задержка речевого развития
С3% - доля пропионовой кислоты в соотношении уксусная: пропионовая: масляная	ИИ – индекс изоокислот
С4 – концентрация масляной кислоты в кале С ₄ - относительная представленность концентрации масляной кислоты в кале	ИМТ – индекс массы тела
С4% - доля масляной кислоты в соотношении уксусная: пропионовая: масляная	КА – коэффициент атерогенности
С5 – концентрация валериановой кислоты в кале	КГ – контрольная группа
С ₅ - относительная представленность концентрации валериановой кислоты в кале	КЦЖК - короткоцепочечные жирные кислоты
С6 – концентрация капроновой кислоты в кале	ЛДГ - лактатдегидрогеназа
С ₆ - относительная представленность концентрации капроновой кислоты в кале	ЛПВП – липопротеиды высокой плотности
iС4 - концентрация изомасляной кислоты в кале	ЛПНП – липопротеиды низкой плотности
iС ₄ - относительная представленность концентрации изомасляной кислоты в кале	ЛПОНП – липопротеиды очень низкой плотности
iС5 – концентрация изовалериановой кислоты в кале	МАРС – малые аномалии развития сердца
iС ₅ - относительная представленность концентрации изовалериановой кислоты в кале	МК – микробиота кишечника
iС6 – концентрация изокапроновой кислоты в кале	МТ – масса тела
iС ₆ - относительная представленность концентрации изокапроновой кислоты в кале	МФН - морфофункциональная незрелость
	ОУ – суммарная концентрация летучих жирных кислот в кале
	ОХС – общий холестерин сыворотки
	ПЭ – панкреатическая эластаза кала
	РДСН - респираторный дистресс синдром
	СИ - структурный индекс
	ТГ - триглицериды
	ТТН - транзиторное тахипноэ
	УЗИ – ультразвуковое исследование
	ФАМК – функциональная активность микробиоты кишечника
	ЦД - церебральная депрессия
	ЩФ – щелочная фосфатаза