

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ

КЛИНИЧЕН ЦЕНТЪР ПО ЕНДОКРИНОЛОГИЯ И ГЕРОНТОЛОГИЯ

Д-Р МАРИЯ ВЕСКОВА БОЯДЖИЕВА – ВЛАДИМИРОВА

**ЧЕСТОТА И КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ
НА ГЕСТАЦИОННИЯ ЗАХАРЕН ДИАБЕТ СРЕД РИСКОВА ГРУПА ОТ БРЕМЕННИ**

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

на дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен
„ДОКТОР“

Професионално направление: медицина

Научна специалност: Ендокринология 03.01.16

Научни ръководители:

ПРОФ. Д-Р САБИНА ЗАХАРИЕВА, ДМН И ДОЦ. Д-Р ИЛИЯНА АТАНАСОВА, ДМ

Рецензенти: Проф. Д-р Цветалина Танкова, дмн

Проф. Д-р Мария Орбецова, дм

София, 2013г.

Дисертационният труд е написан на 160 стандартни страници. От тях на 27 страници са представени използваните литературни източници. Библиографската справка включва 342 автора – 6 на кирилица и 336 на латиница. Материалът е онагледен с 17 таблици и 29 фигури. Изследванията са проведени в клинична база на УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев”.

Във връзка с дисертационния труд са издадени 10 публикации (7 в български списания, 3 в международни списания, от които 2 с импакт фактор) и има 15 участия в научни форуми по темата на дисертационния труд (7 в национални и 8 в международни конгреси).

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита от Учебно-научния съвет към Клиничен център по Ендокринология, Медицински Университет София.

Материалите по защитата се намират на разположение в научния отдел на МФ, МУ-София, ул. „Здраве” № 2

Публична защита на дисертационния труд ще се състои на 26.11.2013г от 12.30 часа в Учебната зала на УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев”, гр. София, ул. „Здраве” № 2, етаж 11, съгласно чл. 76 и 77 от Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в Медицински Университет – София и въз основа на заповед № РК36-1482/ 18.07.2013г на МУ- София,, пред научно жури в състав:

Рецензенти:

Проф. Д-р Цветалина Танкова, дмн

Проф. Д-р Мария Орбецова, дм

Становище:

Доц. Д-р Илияна Атанасова, дм

Доц. Д-р Кирил Христозов, дм

Доц. Д-р Мария Малинова, дм

СЪДЪРЖАНИЕ

Използвани съкращения.....	4
Въведение.....	5
Цел, задачи, материал и методи	
- Цел.....	6
- Основни задачи.....	6
- Материал.....	7
- Методи.....	8
Резултати.....	11
Обсъждане.....	32
Стратегия за скрининг и подход при гестационен захарен диабет.....	41
Основни изводи.....	42
Приносите на дисертационния труд.....	44
Публикации и участия в научни прояви във връзка с дисертационния труд.....	46
Научни проекти във връзка с дисертационния труд.....	50
Благодарности.....	51

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

ADA – Американска диабетна асоциация

ADIPS – Австралоазиатска асоциация по изучаване на диабет и бременност

ГЗД – гестационен захарен диабет

EASD – Европейска асоциация по изучаване на захарен диабет

GAD-65 - антителата към декарбоксилазата на глутаминовата киселина

HAPO study – Hyperglycemia and adverse pregnancy outcome

HbA1c – гликиран хемоглобин

hsCRP – високочувствителен С – реактивен протеин

IA-2 - антителата към тирозин фосфатазата

IADPSG – Международна асоциация по изучаване на диабет и бременност

ICSI – интра цитоплазмено инжектиране на сперматозоид в яйцеклетката

IRI – имуно-реактивен инсулин

IRS-1 – инсулинов рецепторен субстрат

IVF – in-vitro оплождане

ИТМ – индекс на телесна маса

NZZSD – Ново Зеландска асоциация по изучаване на диабет

НГГ – нарушена гликемия на гладно

НГТ – нарушен глюкозен толеранс

НЗД – новооткрит захарен диабет

OR /odds ratio/ - отношение на шансовете

ОГТТ – орален глюкозо толерансен тест

PAPP-A – pregnancy-associated protein A

ROC крива – receiver operating characteristics крива

СПКЯ – синдром на поликистозни яйчници

ЗД – захарен диабет

WHO – Световна здравна организация

ВЪВЕДЕНИЕ

Гестационният захарен диабет е актуален проблем в наше време, пораждащ научен и медико-обществен интерес. Той е свързан с редица рискове за плода, новороденото, неговото развитие, както и за майката. Честотата му варира и нараства в световен мащаб, паралелно с тази на захарния диабет тип 2. Въпреки голямото му социално значение, все още съществуват редица нерешени проблеми. Няма данни за честотата на ГЗД в България. С въвеждането на новите критерии на Международната асоциация по изучаване на проблемите на диабет и бременност, дялът на ГЗД се покачва значително. От друга страна, тези критерии все още не са въведени рутинно в редица държави по света, включително и у нас.

Неясен остава въпроса дали всички бременни трябва да бъдат изследвани за ГЗД или само при наличие на риск за развитие на състоянието. Липсата на национална програма за скрининг налага търсенето на максимално надеждни, евтини и достъпни методи за откриването на бременните жени с повишен риск за ГЗД. Обсъжда се мястото на кръвната захар на гладно и гликирания хемоглобин в диагностичния алгоритъм. Налице са противоречиви данни по отношение на ролята на адипоцитокините по време на бременност.

Разгадаването на човешкия геном и в частност откриването на гените, генните полиморфизми или мутации, които се установяват в най-висок процент при пациентите със захарен диабет, насочва вниманието и към търсенето на съответните гени отговорни за развитието на ГЗД. Значението им остава противоречиво.

Изясняването на различните метаболитни и генетични рискови фактори ще позволи изграждането на диференциран подход към бременните жени и изработването на стратегия за превенция и поведение при ГЗД.

ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

I. ЦЕЛ

Целта на настоящата работа е да се определи честотата и да се оцени значението на клиничко – лабораторните показатели за диагнозата и еволюцията на гестационен захарен диабет сред рисковата група от бременни жени.

II. ОСНОВНИ ЗАДАЧИ

1. Да се определи честотата на ГЗД сред бременни жени в 24-28 гестационна седмица с повишен риск за развитие на състоянието в българска популация.
2. Да се определят критериите за ГЗД с най-голяма диагностична стойност за българска популация.
3. Да се определи ролята на кръвната захар на гладно в диагностичния алгоритъм на ГЗД и необходимостта от провеждането на масов скрининг за ГЗД сред бременни жени.
4. Да се определи праговата стойност на гликирания хемоглобин за поставяне на диагноза ГЗД.
5. Да се анализира значимостта на отделните рискови фактори за развитие на ГЗД.
6. Да се установи честотата на автоантителата към β -клетката на панкреаса при бременни жени.
7. Да се анализират класическите и нетрадиционни метаболитни показатели при жени с ГЗД и да се сравнят с тези при контролна група бременни жени.
8. Да се изследват гените и генните полиморфизми, определени като доказани и кандидат-гени за развитието на ГЗД .
9. Да се проследи изхода от бременността в изследваната популация по отношение на майката и на плода.
10. Да се оцени прогресията на ГЗД към нарушения в глюкозния толеранс след приключване на бременността.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

I. МАТЕРИАЛ

1. Крос – секционнo проучване

В проучването са включени 1000 бременни жени между 24 – 28 гестационна седмица, на средна възраст $31,1 \pm 4,7$ години (от 19 до 51 години), с повишен риск за развитие на ГЗД. В единични случаи изследването е проведено в по-ранна гестационна възраст при наличие на множество включващи критерии. Изследването бе проведено в Клиничен център по ендокринология, Медицински Университет София през периода юни 2009г. до януари 2012г. Участниците бяха насочвани от лекари акушер-гинеколози, от клиники по пренатална диагностика, клиники по акушерство и ендокринологии от гр. София и други градове от страната при наличие на повишен риск за ГЗД. Повишен риск за развитие на ГЗД приехме при наличие на поне един от следните рискови фактори:

- фамилна обремененост за ЗД, наднормено телесно тегло /затлъстяване преди началото на бременността, анамнеза за репродуктивни неудачи, ГЗД при предходна бременност, последвана от нормогликемия, СПКЯ, раждане на плод с тегло > 4000 гр., ехографски данни за макрозомия и хидрамнион на плода, многображдани жени, възраст >30 години;

Наличието на ЗД тип 1 или 2 преди настъпването на бременността бе единствения изключващ критерий.

Автоантителата, насочени към β -клетките на панкреаса изследвахме при 90 от жените с ГЗД и 40 контроли. Допълнително при 130 жени с ГЗД и 130 бременни контроли е извършен генетичен анализ.

Контролната група включваше бременни жени с рискови фактори, но без ГЗД според оценените критерии.

2. Проспективно проучване

В проспективното проучване бяха включени 100 жени от крос-секционното проучване с диагностициран ГЗД. Те бяха изследвани на 6 – 12 седмица след приключване на бременността.

II. МЕТОДИ

1. Анкетен метод

Използван бе изготвен от нас стандартен въпросник, включващ основните рискови фактори за развитие на ГЗД.

2. Клинични методи

- Стандартни антропометрични параметри
- Артериалното налягане и средно артериално налягане (САН).

3. Функционални тестове

- ОГТТ – при всички участници в проучването, при спазени стандартни условия на теста

4. Изследвани лабораторни показатели

- кръвна захар трикратно в хода на ОГТТ – на гладно, на 60 и 120 минута (хексокиназен ензимен метод);
- серумен инсулин - имуно-радио-метричен метод (IRMA);
- $HOMA\ IR = \text{инсулин на гладно (mIU/l)} \times \text{плазмена глюкоза на гладно (mmol/l)} / 22.5$
- $HOMA\ \%B = \text{серумен инсулин на гладно (mIU/l)} / \text{плазмена глюкоза на гладно (mmol/l)} - 3,5$
- hsCRP (турбидиметричен метод);
- гликиран хемоглобин (HbA1c) – турбидиметричен метод;
- липиден профил, включващ общ холестерол, HDL-холестерол и триглицериди – ензимен колориметричен метод;
- адипонектин (BioVendor® kits), лептин (DRG Germany® kits), резистин (BioVendor® kits), ; TNF-α и IL-6 (ензимно свързан имуно – сорбентен метод);
- апелин, висфатин (Phoenix Pharmaceuticals Inc., USA) - радио – имунологичен метод;

- автоантитела към 65 kD изоформата на декарбоксилазата на глутаминовата киселина (GAD-65 антитела), инсулинови автоантитела (IAA) и тирозин-фосфатазни антитела (IA-2) - ензимно свързан имуно – сорбентен метод;

5. Генетичен анализ

- ДНК бе изолирана от венозна кръв взета с помощта на Chemagic Magnetic Separation Module (ChemagenAG). SNP генотипизиране бе извършено с помощта на TaqMan проби и апарат 7500 HT Real Time PCR system (Applied Biosystems). Изследвани са GSKR, IRS-1, Adiponectin, PPARG, CDKAL1, GSK, LEP, MBL2, TCF7L2, INS, KCNJ11, STRA6, FTO и TCF2. Първичната обработка на данните от проведената полимеразна верижна реакция в реално време бе направена с програмният продукт на същата фирма SDSv2.2.2. За успешно проведени приехме анализите с амплификация на над 95% от пробите. Десет проби бяха генотипизирани два пъти, в два независими експеримента за възпроизводимост на метода. По този начин гарантирахме надеждност и повторяемост на резултатите.

6. Диагностични критерии

За поставяне на диагнозата ГЗД са използвани критериите на IADPSG, както и тези на ADA, CDA, EASD, ADIPS, NZSSD и WHO. На таблица 1 са показани диагностичните критерии за ГЗД според стойностите на кръвната захар по време на ОГТТ.

Таблица 1. Диагноза на ГЗД според критериите на IADPSG, ADA, WHO, EASD, CDA, ADIPS и NZSSD.

Критерии	Брой критерии на диагноза ГЗД	КЗ на гладно (mmol/l)	КЗ ОГТТ – 60' (mmol/l)	КЗ ОГТТ – 120' (mmol/l)
IADPSG	≥ 1	5.1	10	8.5
ADA	≥ 2	5.3	10	8.6
WHO	≥ 1	7		7.8
EASD	≥ 1	6		9
CDA	≥ 2	5.3	10.6	8.9
ADIPS	≥ 1	5.5		8
NZSSD	≥ 1	5.5		9

7. Проследяване на изхода от бременността

До месец юни 2012, данни за изхода от бременността имахме при 682 (68.2%) жени от общо 1000, участвали в проучването. Анализирани бяха: метод на родоразрешение (нормално раждане, цезарово сечение), ехографски определеното отношение обиколка на главата/ обиколка на корема (НС/АС ratio), тегло на новороденото (макрозомия > 4000гр.), както и пондералния индекс на новороденото (тегло на новороденото (гр.) x 100/ дължината на новороденото (см.).

8. Статистически методи

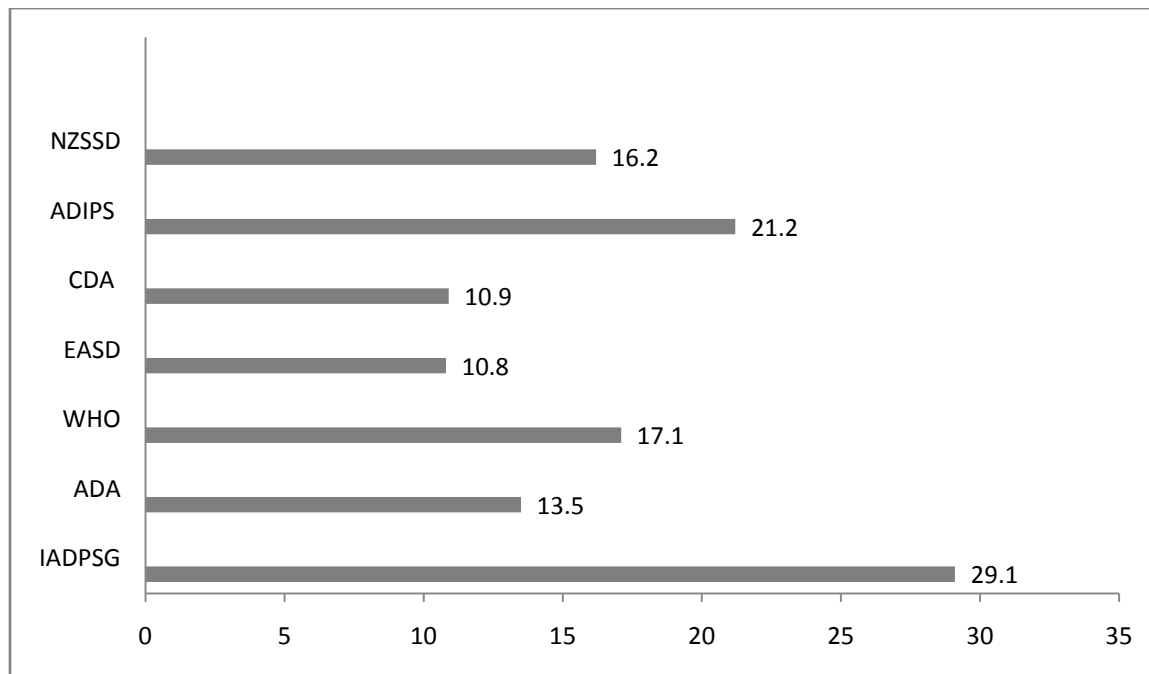
За обработка и анализ на данните от проучването използвахме статистически методи: дескриптивен, вариационен анализ, графични изображения, Т-тест за две независими извадки, Колмогоров – Смирнов, Shapiro-Wilk, Mann – Witney, χ -квадрат и тест на Фишер, логистичен регресионен анализ, изчисляване на чувствителност и специфичност, ROC анализ, Капа (κ – kappa) – степен на съгласуваност между два показателя (SPSS v. 17.0). За ниво на значимост бе прието ниво на значимост $p \leq 0,05$.

Статистически анализ за наличие на отклонения от закона на Харди-Вайнбер и за асоциация между болестта и полиморфни варианти в кандидат гените бе направен с помощта на програмата PLINK (Purcell, S., Am J Hum Genet, 2007. 81(3): p. 559-75.)

РЕЗУЛТАТИ

I. ЧЕСТОТА НА ГЗД И ИЗБОР НА ДИАГНОСТИЧЕН ПОДХОД

Най-висока честота на ГЗД установихме при използване на критериите на IADPSG, а най-ниски според критериите на EASD и CDA (фиг. 1). От случаите с диагностициран ГЗД 29 от бременните (10%) отговаряха на критериите за ЗД преди бременността (фиг. 2).



Фигура 1. Честота (%) на ГЗД според различните диагностични критерии.



Фигура 2. Разпределение на бременните в групата с ГЗД според критериите за ЗД

Чрез капа анализ (к) определихме степента на съгласуваност между два показателя. Асоциацията бе много добра при сравняване между Канадско/Американските и Австралоазиатските/Ново Зеландските критерии (табл. 2). Добра степен на съгласуваност установихме при 9 от двойките критерии и средна степен на съгласуваност също при 9 от двойките критерии.

От седемте вида критерии бяха възможни 21 комбинации по двойки, като между всяка една от двойките се установи значима разлика ($p < 0,0001$). Значима бе и разликата в честотата на ГЗД дори и при най-добрата степен на съгласуваност ($\kappa = 0,88$) при двете географско най-близко разположени държави (Канадски/Американски критерии).

Таблица 2. Сравняване на различните критерии по двойки и степен на съгласуваност / - карра/ между всяка една от двойките.

К-капа	IADPSG	ADA	WHO	EASD	CDA	ADIPS	NZSSD
IADPSG		0.5	0.49	0.41	0.42	0.67	0.59
ADA	145 (18.4)		0.58	0.69	0.88	0.65	0.73
WHO	116 (14.8)	29 (3.6)		0.59	0.5	0.77	0.56
EASD	167 (21.1)	22 (2.7)	51 (6.3)		0.74	0.62	0.77
CDA	166 (21)	21 (2.6)	50 (6.2)	1 (0.1)		0.56	0.69
ADIPS	83 (10.7)	62 (7.7)	33 (4.1)	84 (10.4)	83 (10.3)		0.84
NZSSD	123 (15.7)	22 (2.7)	7 (0.9)	44 (5.4)	43 (5.3)	40 (5)	

II. РОЛЯ НА КРЪВНАТА ЗАХАР НА ГЛАДНО В ДИАГНОСТИЧНИЯ АЛГОЛИТЪМ НА ГЗД

На таблица 3 са представени тестове за чувствителност и специфичност. Само при 4,8% (9/1000) сред жените със стойност на КЗГ ≤ 4.4 ммол/л диагнозата ГЗД ще бъде пропусната. Всички жени с КЗГ ≥ 5.1 ммол/л попадат в групата на ГЗД като специфичността достига до 100%.

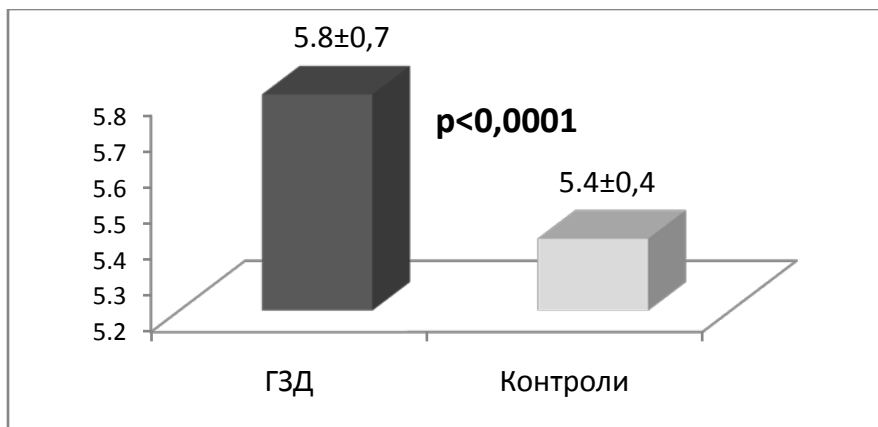
Таблица 3. Разпределение на бременните жените според нивото на КЗГ.

КЗГ на или над прага	4.2 mmol/l	4.4 mmol/l	4.6 mmol/l	4.8 mmol/l	5.1 mmol/l	5.3 mmol/l
Брой на жените на или над прага (%)	836 (83.6)	720 (72.0)	570 (57.0)	384 (38.4)	233 (23.3)	169 (16.9)
Положителна предиктивна стойност (%)	2.2	4.4	8.3	19.3	27.1	47
Чувствителност (%)	97.8	95.6	91.7	80.7	72.9	53.1
PPV (%)	37.3	42.4	51.4	67	100	100
LR +	-4.4	-2.5	-1.6	-1.0	-0.7	-0.5
Брой на жените под нивото на прага (%)	164 (16.4)	280 (28.0)	430 (43.0)	616 (61.6)	767 (76.7)	831 (83.1)
Фалшиви позитивен резултат (%)	0.8	0.6	0.4	0.2	0	0
Специфичност (%)	23.1	39.1	59.3	81.3	100	100
Отрицателна предиктивна стойност (%)	95.7	95	93.9	90	88.7	82
LR-	-4.2	-2.4	-1.5	-1.0	-0.7	-0.5

Избрани стойности на КЗГ и съответните тестове за чувствителност, специфичност, положителна и отрицателна предиктивна стойност, likelihood ratios of positive (LR+) и negative (LR-); Фалшиво позитивен резултат (1 – специфичността) и Фалшиво отрицателен резултат (1 – чувствителността).

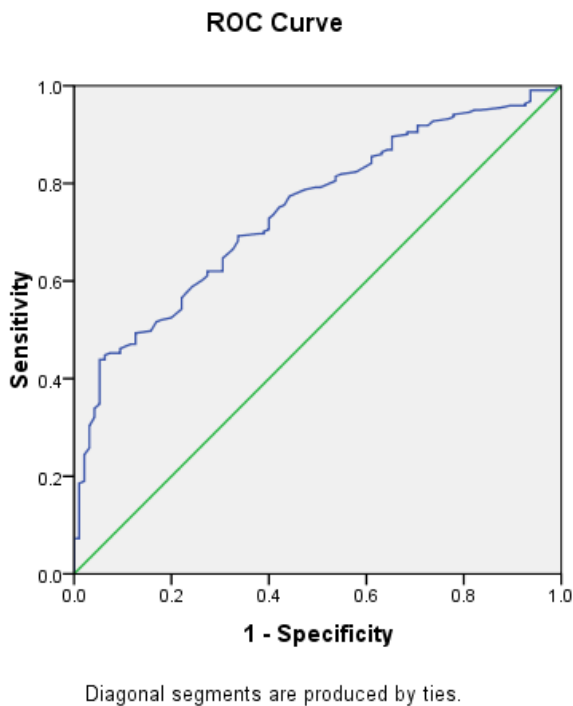
III. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ПРАГОВА СТОЙНОСТ НА НВА1С

Средната стойност на HbA1c е значимо по-висока в групата с ГЗД спрямо тази на контролната група ($p < 0,0001$) (фиг. 3). Стойността на HbA1c сред бременните жени с ГЗД варираше между 4,5 и 7.7%.



Фигура 3. Средни стойности на HbA1c в групата с ГЗД и контролната група

Площта под ROC кривата на HbA1c (ROC анализ) е 0,742 (area under the curve = 0.742, SE=0.04, 95%CI 0.687–0.798, $p < 0.0001$). При прагова стойност $\geq 6,0\%$ чувствителността е 36,36%, а специфичността 93,27% (фиг. 4). Оптимална чувствителност и специфичност се получава при прагова стойност 5.6%, като по този начин HbA1c може да изключи ГЗД с чувствителност 64.71% и специфичност 62.02% (табл. 5).



Фигура 4. ROC крива демонстрираща специфичност и чувствителност на HbA1c

Таблица 5. Разпределение на бременните жени според различните стойности на HbA1c.

HbA1c на или над прага (%)	4.6%	5%	5.3%	5.6%	6%	6.5%
Брой на жените на или над прага (%)	291 (100%)	278(95.7)	249(85.6)	188(64.7)	106(36.4)	33(11.2)
Фалшиво отрицателен резултат (%)	0	4.3	14.4	35.3	63.6	88.8
Чувствителност (%)	100	95.72	85.56	64.71	36.36	11.23
Положителна предиктивна стойност (%)	47.46	48.25	53.16	60.5	82.93	91.3
Брой на жените под нивото на прага (%)	0 (0%)	8	27	66	119	166
Фалшиви позитивен резултат (%)	100	92.3	67.8	38.0	6.7	1
Специфичност (%)	0.48%	7.69%	32.21	62.02	93.27	99.04
Отрицателна предиктивна стойност (%)	100	66.67	71.28	66.15	61.98	55.38

Избрани стойности на HbA1c и съответните тестове за чувствителност, специфичност, положителна и отрицателна предиктивна стойност, Фалшиво позитивен резултат (1 – специфичността) и Фалшиво отрицателен резултат (1 – чувствителността).

IV. РИСКОВИ ФАКТОРИ ЗА РАЗВИТИЕ НА ГЗД

Анализирахме връзката между отделните рискови фактори за развитието на ГЗД, използвайки логистичен регресионен анализ. Най-голямо влияние като рисков фактор за ГЗД имат възрастта >30 години; установена случайно повишена стойност на кръвната захар на гладно; анамнеза за репродуктивни неудачи; наднормено телесно тегло и в по-голяма степен затлъстяване преди настъпване на бременността (табл. 4). Установихме значима асоциация с наличието на първостепенни и второстепенни родственици със захарен диабет тип 2 в едно семейство в сравнение с фамилна анамнеза само за първостепенни или второстепенни. Жените, чиято бременност е настъпила чрез IVF/ICSI, също имат значимо по-голям риск за развитието на ГЗД. Факторите възраст под 29 години, многоораждали жени, раждане на плод с тегло > 4000гр., собствено тегло при раждането >

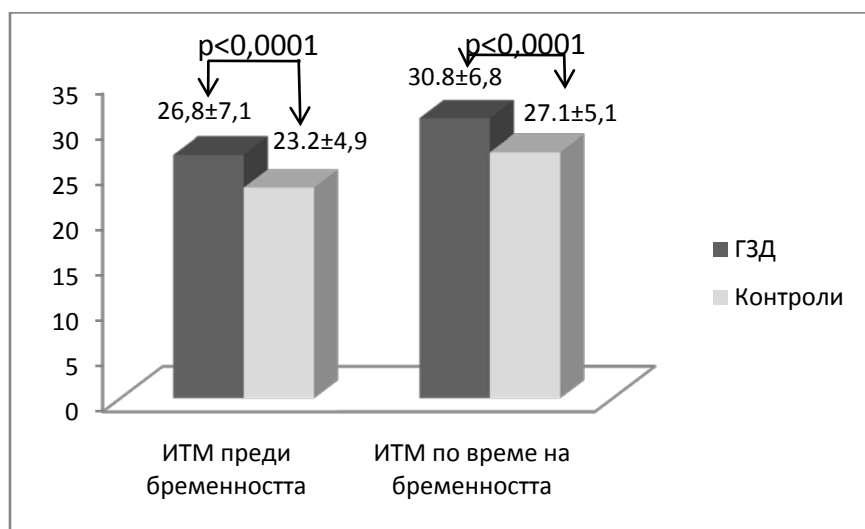
4000гр., двуплодна бременност, анамнеза за СПКЯ не достигнаха статистическа значимост.

Таблица 4. Връзка на различните рискови фактори с развитието на ГЗД (логистичен регресионен анализ)

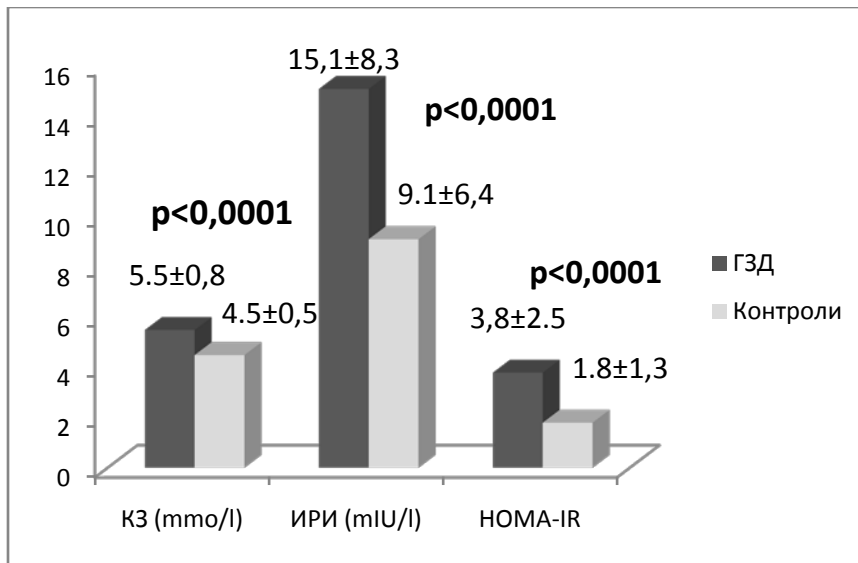
Показател	OR	95% CI	P
Възраст			
<29г.	1,175	0,825 – 1,673	0,371
30-34г.	2,245	1,503 – 3,353	0,0001
>35г.	2,235	1,113 – 4,856	0,025
Родственик със ЗД:			
Първостепенен родственик	1,469	0,959 – 2,251	0,077
Първостепенен и второстепенен родственик	2,523	1,491 – 4,267	0,001
Второстепенен родственик	1,103	0,750 – 1,620	0,619
Родственик със ЗД	1,394	1,026 – 1,894	0,034
Раждане на плод с тегло >4000гр.	2,074	0,891 – 4,826	0,09
Собствено тегло при раждане >4000гр.	0,506	0,284 – 1,102	0,93
Забременяване чрез асистирана репродукция	2,123	1,340 – 3,363	0,001
Двуплодна бременност	1,293	0,593 – 2,921	0,518
Репродуктивни неудачи	1,448	1,043 – 2,012	0,027
Многораждали жени	0,848	0,610 – 1,181	0,330
Анамнеза за СПКЯ	1,202	0,845 – 1,710	0,307
Установена случайно завишена кръвна захар	3,883	2,786 – 5,412	0,0001
ИТМ /кг/м ² / преди бременността			
>25 и <29,9	1,629	1,082 – 2,453	0,019
>30	4,162	2,812 – 6,160	0,0001

V. МЕТАБОЛИТНИ ПОКАЗАТЕЛИ

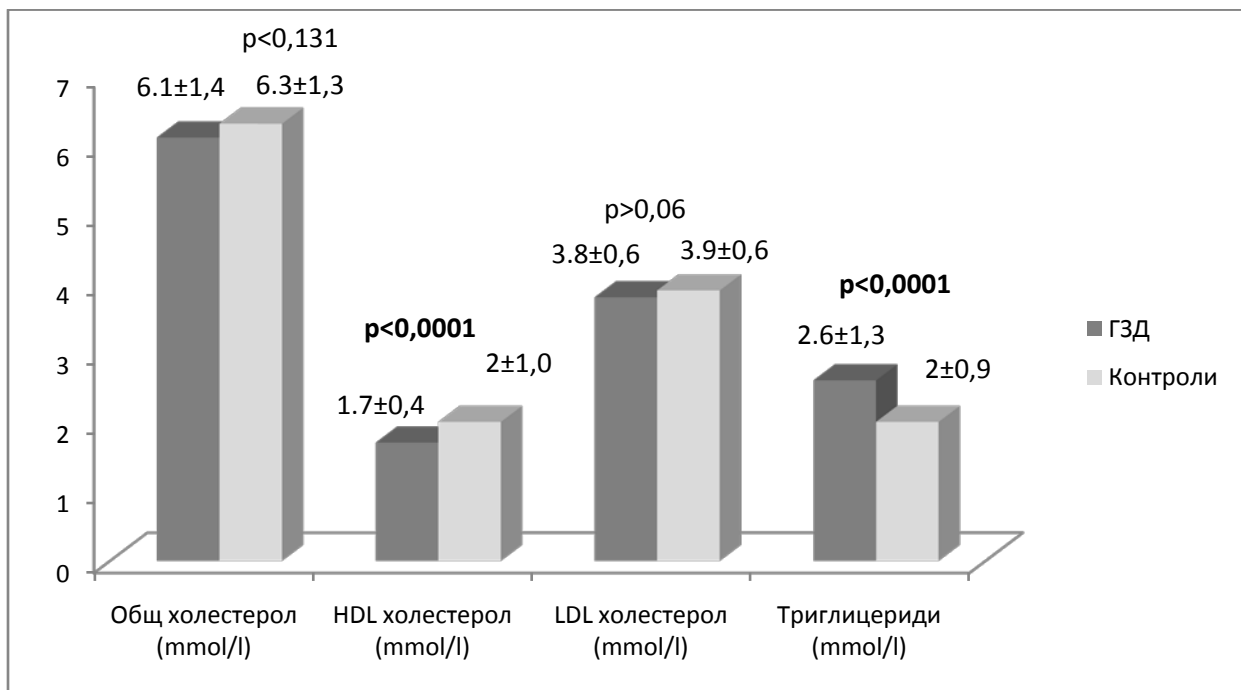
Анализът на данните от сравнението на изследваните групи ГЗД и контроли показва, че жените с ГЗД са по-възрастни ($30,7 \pm 4,5$ г срещу $32,2 \pm 5,0$ г, $p < 0,0001$); имат значимо по-голям ИТМ както преди бременността, така и по време на самата бременност, съответно по гестационната седмица ($p < 0,0001$); по-високи нива на кръвната захар на гладно ($p < 0,0001$), серумния инсулин ($p < 0,0001$), НОМА IR ($p < 0,0001$) и по-ниски на НОМА-%В ($p < 0,044$), както и на серумните липиди – HDL холестерол ($p < 0,0001$) и триглицериди ($p < 0,0001$). Значимо по-високи бяха и нивата на hsCRP ($p < 0,001$) и САН ($p < 0,0001$) (фиг. 5-9).



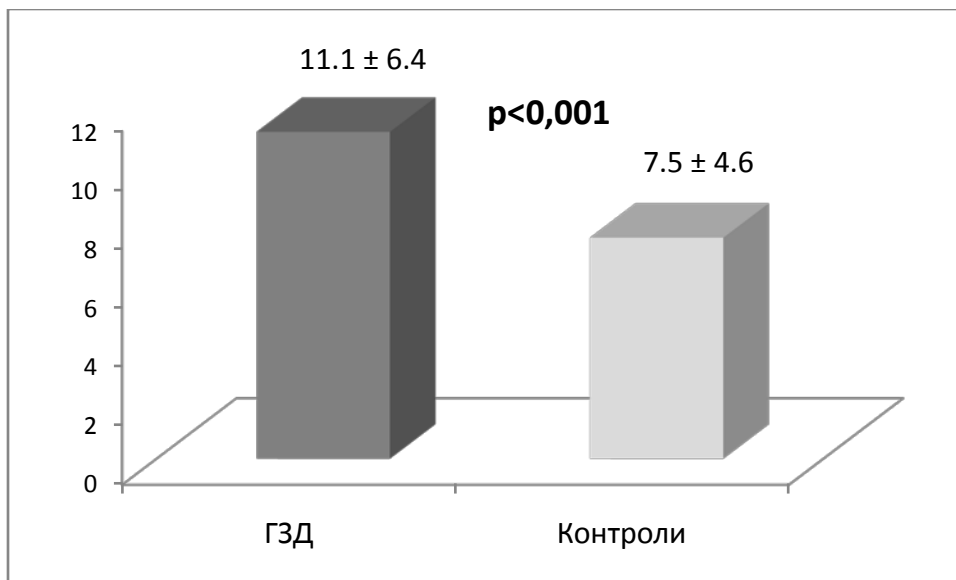
Фигура 5. Индекс на телесна маса (ИТМ) при жените с ГЗД и контролната група преди и по време на бременността



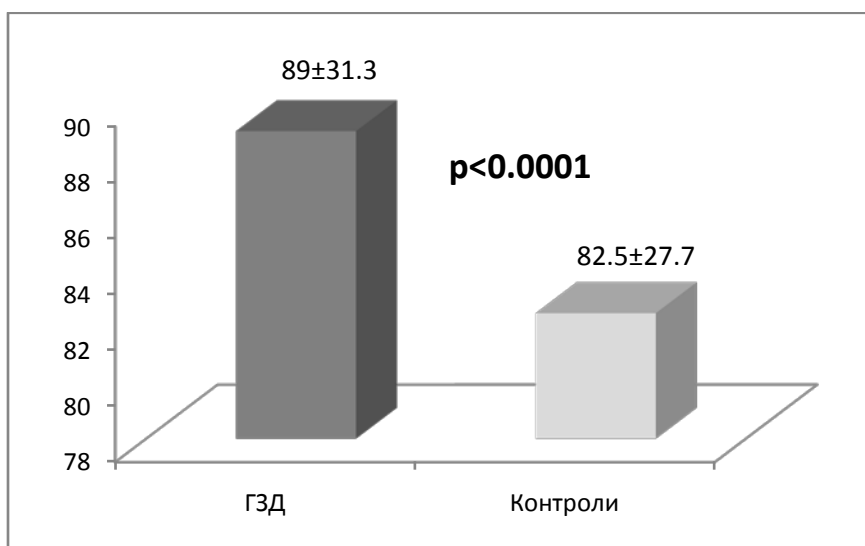
Фигура 6. Средни стойности на кръвната захар на гладно, имунореактивен инсулин и НОМА IR индекс при жените с ГЗД и контролна група



Фигура 7. Средни стойности на серумните липиди (Общ холестерол, HDL-холестерол, LDL-холестерол и триглицериди при жените с ГЗД и контролната група



Фигура 8. Средни стойности на hsCRP ng/l при жените с ГЗД и контролната група

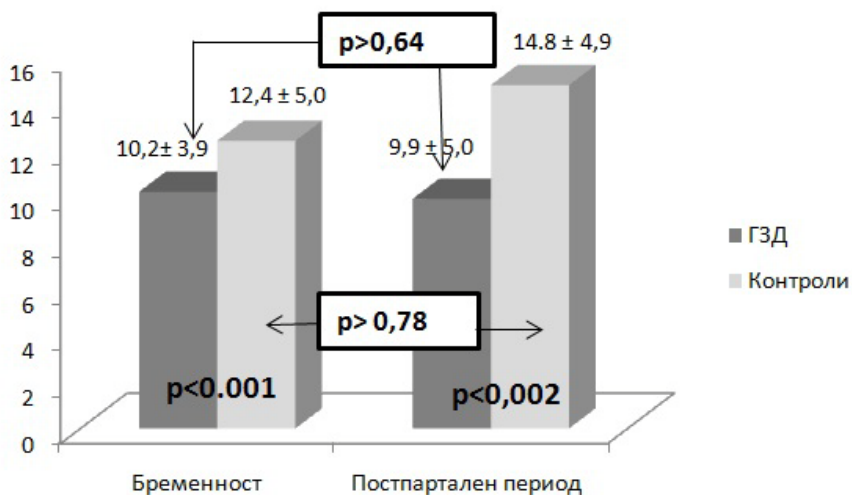


Фигура 9. Средни стойности на САН (mmHg) при жените с ГЗД и контролната група.

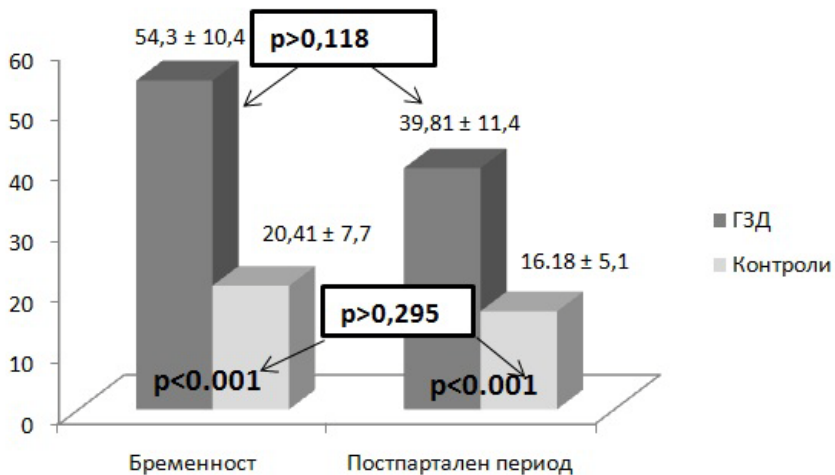
VI. АДИПОЦИТОКИНИ

Установихме значимо по-ниски нива на адипонектин в групата с ГЗД спрямо контролната група бременни ($p < 0,001$), (фиг. 10). Това ниво на значимост се запази и след приключване на бременността ($p < 0,002$). Въпреки тенденцията за покачване нивото на адипонектин след приключване на бременността, не установихме значими разлика нито в групата с ГЗД ($p > 0,64$), нито в контролната група ($p > 0,78$). Подобни резултати получихме и

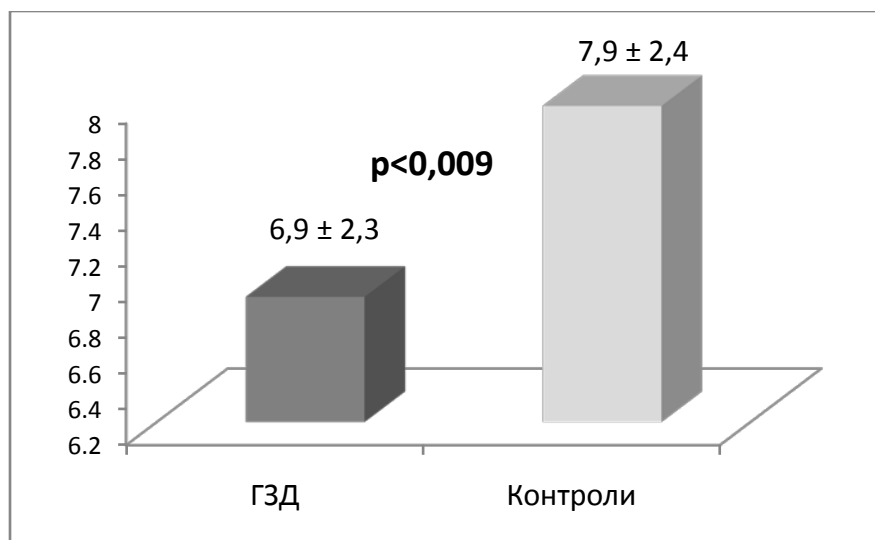
за серумните нива на лептина (фиг. 11). Серумните нива на апелина бяха значимо по-ниски при жените с ГЗД в сравнение с контролната група ($p < 0,009$), (фиг. 12).



Фигура 10. Нива на адипонектин ($\mu\text{g/ml}$) по време и след приключване на бременността при жени с ГЗД и контролната група



Фигура 11. Серумни нива на лептин (ng/ml) по време и след приключване на бременността при жени с ГЗД и контролната група



Фигура 12. Серумни нива на апелин (ng/ml) при жени с ГЗД и контролна група бременни

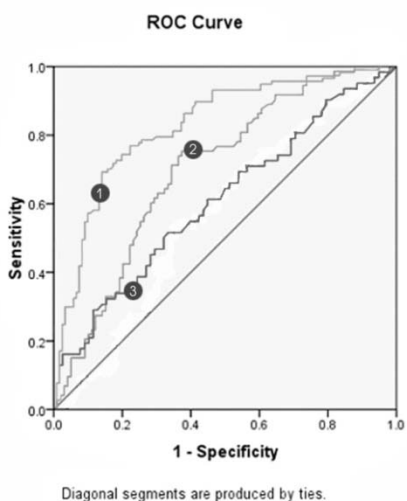
Не установихме статистически значима разлика между двете групи по отношение на серумните нива на резистин ($10,1 \pm 2,2$ c/y $9,1 \pm 3,2$ ng/ml, $p=0,317$), висфатина ($462,5 \pm 50,2$ c/y $448,5 \pm 48,9$ ng/ml, $p=0,218$), TNF-alfa ($12,7 \pm 1,2$ c/y $11,1 \pm 0,9$ ng/ml, $p=0,893$) и IL-6 ($1,9 \pm 0,6$ c/y $2,1 \pm 0,7$ ng/ml, $p=0,500$).

Потърсихме връзка между адипоцитокините и някои от демографските показатели. Установихме негативна връзка между нивото на адипонектин и НОМА IR, ИТМ, HbA1c и hsCRP, (табл. 6). Не установихме връзка между адипонектина и останалите адипоцитокини с изключение на лептина. Нивото на лептина корелираше с нивото на резистина, НОМА IR, ИТМ, HbA1c и hsCRP. Резистинът корелираше с НОМА IR. Не отчетохме други значими взаимовръзки.

Таблица 6. Корелация между адипоцитокините и някои метаболитни параметри.

		Лептин	Резистин	Апелим	Висфатин	НОМА IR	ИТМ преди бременността	ИТМ по време на бременността	HbA1c	hsCRP
Адипонектин	r	-.324	-.163	.138	.093	-.344	-.364	-.399	-.169	-.032
	p	.0001*	.033*	.229	.467	.0001*	.0001*	.0001*	.027*	.676
Лептин	r		0.241	.083	.078	.558	.634	.691	.167	.02
	p		.001*	.333	.301	.0001*	.0001*	.0001*	.01*	.757
Резистин	r			-.182	.044	.226	.104	.138	.105	.000
	p			.108	.532	.003*	.193	.082	.172	.992
Апелин	r				.131	-.005	.038	.022	-.004	-.035
	p				.243	.95	.66	.799	.963	.688
Висфатин	r					.042	.08	.069	.097	.099
	p					.564	.309	.387	.453	.48

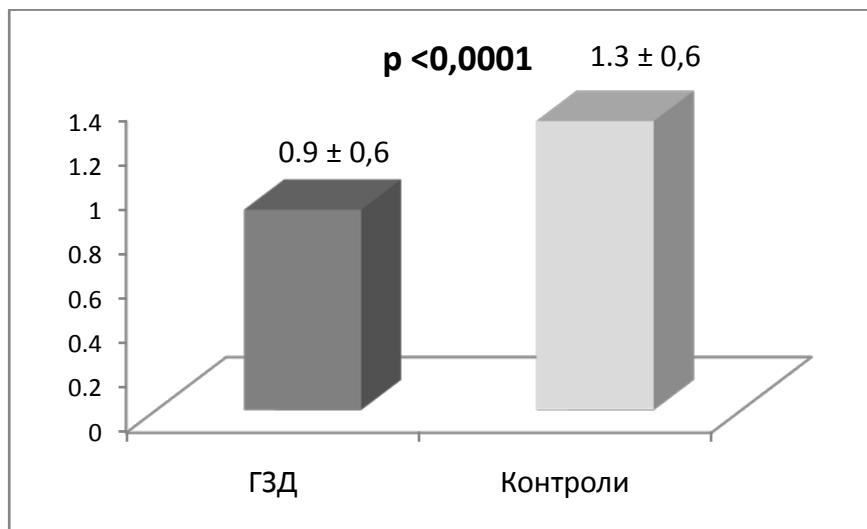
Чрез ROC анализа получихме значима разлика по отношение на стойностите на адипонектина (area under the curve = 0.702, SE =0.04, 95 % CI 0.625 – 0.780, $p < 0.0001$), лептина (area under the curve = 0.827, SE =0.027, 95 % CI 0.774 – 0.880, $p < 0.0001$) и апелина (area under the curve = 0.608, SE =0.048, 95 % CI 0.514 – 0.703, $p < 0.028$), (фиг. 13). Използвайки стойност на адипонектина под 8.2 $\mu\text{g/ml}$, ГЗД може да бъде отхвърлен със чувствителност 83.6 % и специфичност 56.6 %, а нива на лептина над 28.7 ng/ml - с чувствителност 81.2 % и специфичност 64.2%.



Фигура 13. ROC крива на 1) лептин; 2) адипонектин и 3) апелин по време на бременност като предиктор за развитието на ГЗД

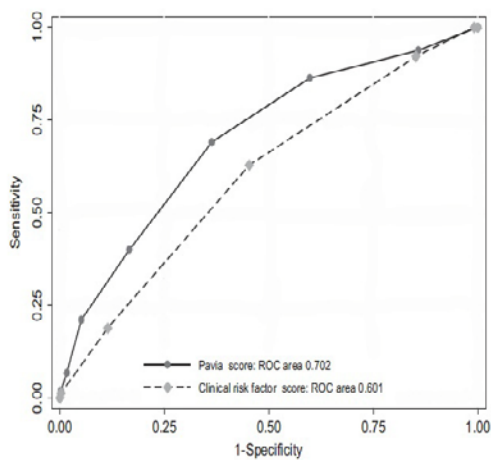
VII. РОЛЯ НА PAPP-A

Установихме значимо по-ниски стойности в нивото на коригирания PAPP-A в групата с ГЗД спрямо контролната група ($p < 0,0001$), (фиг. 14).



Фигура 14. Средни стойности на коригирания МоМ PAPP-A в групата с ГЗД и контролната група

Площта под ROC кривата на PAPP-A за определяне на диагнозата ГЗД е 0,702 (area under the curve=0.702, 95%CI 0.66 – 0.74, $p < 0.0001$), (фиг. 15). Праговата стойност МоМ 0,7 за PAPP-A може да изключи ГЗД с ниво на чувствителност 62,9% и специфичност 54,6%.



Фигура 15. ROC крива демонстрираща специфичност и чувствителност на PAPP-A

VIII. АВТОАНТИТЕЛА, ОПРЕДЕЛЯЩИ ТИПА НА ЗАХАРНИЯ ДИАБЕТ

В 10% от случаите с ГЗД установихме наличие на едно или повече автоантитела към бета-клетъчните автоантигени. За разлика от групата с ГЗД, в контролната група бременни жени не намерихме положителни автоантитела. При 9 от изследваните жени с ГЗД (10%) установихме наличие на едно положително автоантитяло. Честота на антителата е както следва - 4,4% имат анти-GAD-65, 4.4% имат анти-IA-2 и 3,3% имат IAA. Две от жените с ГЗД бяха позитивни за две автоантитела (GAD-65 + IA-2 и IA-2 + IAA). Други две жени с ГЗД, които по време на бременността имаха негативни автоантитела, развиха ЗД тип 1 след бременността.

На таблица 7 е представена характеристика на жените с ГЗД, разделени според наличието или отсъствието на антитела. Установихме значима разлика по отношение на теглото ($p < 0,003$) и ИТМ ($p < 0,004$) преди бременността, и възрастта ($p < 0,0001$). Не установихме значими разлики по отношение на необходимостта от инсулиново лечение за овладяване на хипергликемията и телесното тегло на новороденото.

Таблица 7. Характеристика на групата с ГЗД според антитяло (+) или антитяло (-).

	ГЗД ААт (+) (n=9)	ГЗД ААт (-) (n=81)	P
Възраст (г)	27,7 ± 1,7	31,5 ± 1,9	<0,0001
ИТМ преди бременността (кг/м ²)	26,2 ± 2	28,2 ± 1,7	<0,004
Тегло преди бременността (кг)	74,8 ± 6,5	81,2 ± 5,8	<0,003
Инсулинова терапия	3 (33,3%)	12 (14.8%)	0,3
Тегло на новороденото (кг)	3,4 ± 0,3	3,6 ± 0,3	0,06

IX. ГЕНЕТИЧЕН АНАЛИЗ ЗА ОТКРИВАНЕ НА АСОЦИАЦИЯ МЕЖДУ ГЕСТАЦИОННИЯ ДИАБЕТ И ПОЛИМОРФНИ ВАРИАНТИ В КАНДИДАТ ГЕНИ

Изследвахме асоциацията между ГЗД и едно-нуклеотидни полиморфизми в кандидат гени. Данните от асоциативния анализ на всички 17 еднонуклеотидни

полиморфизма в 7-те кандидат гени са представени на таблица 8. Статистически значима асоциация се наблюдава за варианта rs266729 в адипонектиновия ген AdipoQ ($p=0,0274$). Редкият алел G, се среща по-често при здрави хора и очевидно има защитен ефект като намалява риска от появата на ГЗД ($OR=0,64$).

Таблица 8. Резултат от асоциативния анализ за всички включени в изследването SNP полиморфизми.

SNP	Рядък алел	Честота при болни	Честота при здрави	P	OR
rs780094	T	0,4577	0,5385	0,0655	0,7234
rs1801278	T	0,0625	0,05469	0,7067	1,152
rs1801282	G	0,15	0,1038	0,1139	1,523
rs266729	G	0,2154	0,3	0,02739	0,6405
rs2241766	G	0,1308	0,1	0,2722	1,354
rs1501299	T	0,3538	0,2846	0,09041	1,376
rs7756992	G	0,3411	0,2692	0,07574	1,405
rs1799884	T	0,2154	0,1962	0,5876	1,125
rs7799039	A	0,4419	0,4153	0,5465	1,114
rs1800450	T	0,1977	0,1385	0,07146	1,533
rs7903146	T	0,35	0,3654	0,7144	0,9352
rs290481	T	0,2385	0,1846	0,1328	1,383
rs689	A	0,2615	0,2326	0,4445	1,169
rs5219	T	0,3538	0,2962	0,1602	1,301
rs736118	T	0,05769	0,09231	0,134	0,602
rs9939609	A	0,4923	0,4385	0,2184	1,242
rs7501939	T	0,4385	0,4102	0,5154	1,123

Отклонение от закона на Харди-Вайнберг бе отчетено единствено за полиморфния вариант rs2241766, за който не се наблюдава статистически значима асоциация с болестта.

Наличието на статистически значима асоциация между G алела на rs266729 и ГЗД ни даде основание да анализираме от една страна генотипния ефект (генотипна асоциация) и от друга взаимодействието между този генетичен вариант и другите два полиморфизма в същия ген (хаплотипен анализ).

Таблица 9. Генотипен анализ за варианта rs266729 на гена AdipoQ.

SNP	Рядък алел	Чест алел	Модел	Ген. съотн. - болни	Ген. съотн. - контроли	Степен на свобода	P
rs266729	G	C	генотипен	6/44/80	14/50/66	2	0,0852
rs266729	G	C	доминантен	50/80	64/66	1	0,08015
rs266729	G	C	рецесивен	6/124	14/116	1	0,06262

Както може да се види от резултатите в таблица 9, анализът за асоциацията показва, че няма статистически значима връзка между ГЗД и който и да е от трите генотипа (G/G, G/C и C/C). Това важи както за доминантния, така и за рецесивния тип на унаследяване.

Въпреки, че анализът на данните от генотипирането за едно-нуклеотидните варианти rs2241766 и rs1501299 не показва наличие на значима асоциация на отделните алели и генотипи с ГЗД, хаплотипният анализ ни позволи да идентифицираме една комбинация от алели, която се среща по-често при здрави жени (табл. 10). Става въпрос за хаплотипа GTG, който включва редкия алел на rs266729 и честите алели на rs2241766 и rs1501299 (p=0,0216).

Таблица 10. Хаплотипен анализ за полиморфизмите rs266729, rs2241766 и rs1501299 в AdipoQ.

хаплотип	Честота при болни	Честота при здрави	Р
GTT	0,01495	0,01973	0,6765
CTT	0,3389	0,2649	0,06605
GGG	0,01882	0,01471	0,7154
CGG	0,112	0,08529	0,3079
GTG	0,1816	0,2656	0,02161
CTG	0,3338	0,3498	0,6995

Анализирахме асоциацията на едно-нуклеотидните полиморфизми в 7^{те} кандидат гена с количествените показатели ИТМ, ниво на глюкоза в кръв на гладно, нива на имунореактивен инсулин, триглицериди, адипонектин и лептин, както и НОМА IR индекс. Установихме следните статистически значими връзки: концентрация на глюкоза в кръвта на гладно с rs1800450 в MBL2 ($p=0,007$) и rs290481 в TCF7L2 ($p=0,026$); имунореактивен инсулин с rs780094 в GCKR ($p=0,008$) и rs7903146 в TCF7L2 ($p=0,010$); серумен лептин с rs689 в INS ($p=0,006$) и rs9939609 в FTO ($p=0,017$) и НОМА IR и rs780094 в GCKR ($p=0,006$).

Х. ПРОСЛЕДЯВАНЕ НА ПЛОДА – ЕХОГРАФСКИ ПОКАЗАТЕЛИ, МЕТОД НА РОДОРАЗРЕШЕНИЕ И ТЕГЛО НА НОВОРОДЕНОТО

На таблица 11 са представени средните стойности на теглото на новороденото, ехографското съотношение на обиколка на главата на плода спрямо обиколката на корема (НС/АС) и пондералния индекс при жените с ГЗД и контролната група според различните критерии. Статистически значими разлики установихме в теглото на новороденото само, когато са използвани критериите на IADPSG ($p<0,036$), ADA ($p<0,04$) и CDA ($p<0,03$). Не установихме статистически значими разлики по отношение на НС/АС, независимо кои от диагностичните критерии са използвани. Значимо по-ниски бяха

стойностите на пондералния индекс само при използване на критериите на ADA ($p < 0,04$) и CDA ($p < 0,02$).

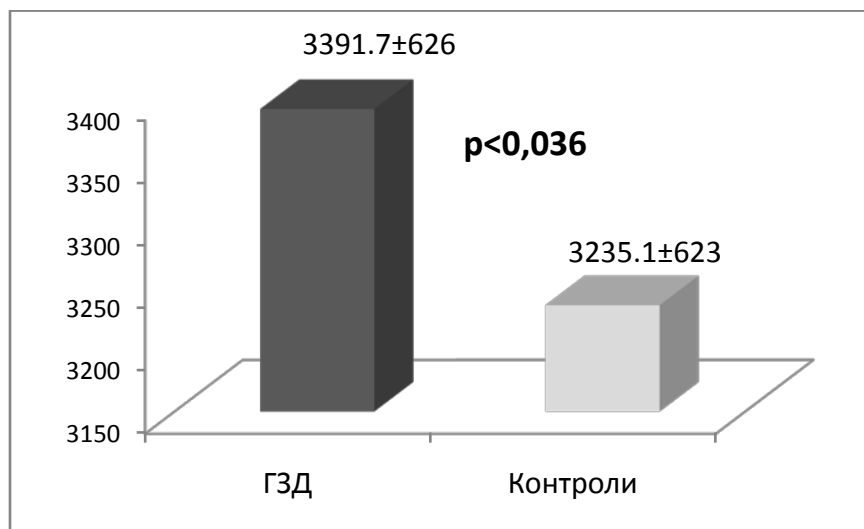
Таблица 11. Средни стойности на теглото на новороденото, НС/АС съотношението и пондералния индекс при жени с ГЗД и контролна група бременни според използваните критерии.

Критерии	Тип	Тегло на новороденото	р	НС/ АС	р	Пондерален индекс	р
IADPSG	ГЗД	3391,7±626.2	0.036	1.08±0.25	0.08	2.61±0.31	0.17
	Контроли	3235.1±623.2		1.13±0.37		2.57±0.27	
ADA	ГЗД	3351.1±849.1	0.04	1.01±0.34	0.55	2.65±0.33	0.04
	Контроли	3244.0±617.1		1.13±0.33		2.57±0.27	
WHO	ГЗД	3280.2±811.4	0.27	1.07±0.28	0.4	2.59±0.33	0.247
	Контроли	3251.6±618.6		1.12±0.35		2.58±0.27	
CDA	ГЗД	3407.6±798.5	0.03	1.00±0.33	0.052	2.67±0.34	0.02
	Контроли	3237.9±630.8		1.13±0.33		2.57±0.27	
EASD	ГЗД	3353.9±835.3	0.1	1.07±0.24	0.53	2.63±0.24	0.24
	Контроли	3243.3±627.9		1.12±0.34		2.58±0.27	
ADIPS	ГЗД	3320.3±762.9	0.25	1.08±0.24	0.4	2.61±0.31	0.25
	Контроли	3239.5±624.4		1.12±0.35		2.57±0.27	
NZSSD	ГЗД	3341.4±782.0	0.08	1.09±0.23	0.29	2.62±0.32	0.29
	Контроли	3238.6±625.9		1.12±0.35		2.58±0.27	

Честотата на макрозомия бе значимо по-висока само при използването на IADPSG ($p < 0,02$) и ADA ($p < 0,01$) критериите (табл. 12). Всеки един от критериите предсказваше значимо по-висока честота на проведено Цезарово сечение като метод на родоразрешение.

Таблица 12. OR за макрозомия и проведено Цезарово сечение като метод на родоразрешение според различните критерии.

	Макрозомия			Честота на проведено Цезарово сечение		
	Odds ratio	95% CI	P	Odds ratio	95% CI	P
IADPSG	2.289	0.734 - 6.255	0.02	1.808	1.149 - 2.844	0.01
ADA	2.357	0.766 - 7.255	0.01	3.487	1.741 - 6.981	0.000
WHO	1.575	0.531 - 4.673	0.374	2.127	1.197 - 3.778	0.01
CDA	1.674	0.432 - 6.480	0.434	3.236	1.563 - 6.697	0.001
EASD	0.82	0.175 - 3.849	1	2.254	1.128 - 4.507	0.025
ADIPS	1.392	0.508 - 3.815	0.583	2.133	1.250 - 3.637	0.005
NZSSD	1.575	0.531 - 4.673	0.374	2.261	1.260 - 4.055	0.006



Фигура 16. Средни стойности на теглото на новороденото (грам) в групата с ГЗД и контролна група

Ехографското тегло на плода в персентили, измерено в 18-23г.с. и 24-30г.с. остана без значима разлика между групата с ГЗД и контролната група. Не установихме значимост и по отношение на ехографския показател за измерване на коремна обиколка при жените с ГЗД и контролната група.

XI. ЛЕЧЕНИЕ НА ГЗД

Лечението на ГЗД включваше основно диета – 83% от случаите. В останалите случаи бе проведено инсулиново лечение, като процентното използване на видовете инсулин бе следното: NPH инсулина 82% (n=41), актрапид 61% (n=34), новорапид 33% (n=17) и хумалог 2% (n=4). NPH инсулин бе използван самостоятелно или в комбинация с останалите бързодействащи инсулини.

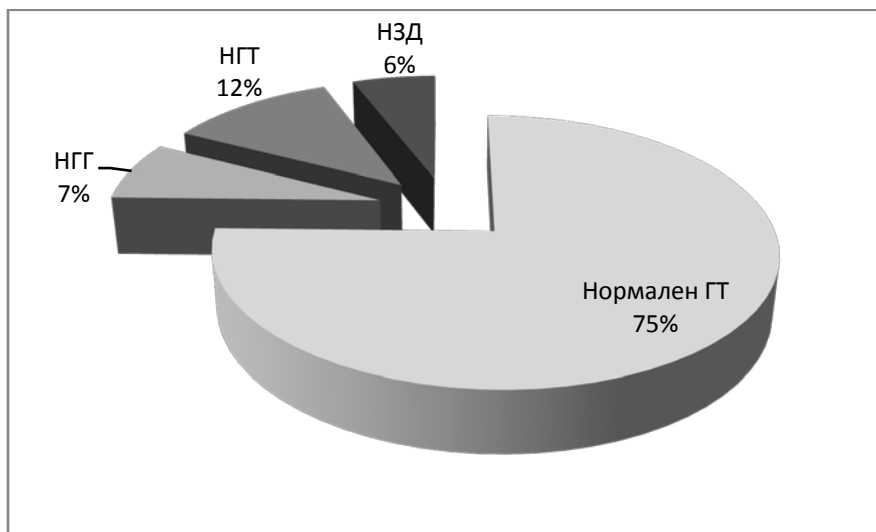
Факторите, свързани с необходимостта от приложение на инсулин са: възраст, особено над 35 години; родственик със захарен диабет; поставяне на диагноза ГЗД под 10 и между 10-20г.с., както и наличието на наднормено телесно тегло и затлъстяване преди бременността (табл. 13).

Таблица 13. Предиктивни фактори за необходимост от приложението на инсулин при пациентки с ГЗД (логистичен регресионен анализ)

Показател	OR	95% CI	P
Възраст			
30-35г.	1,033	1,001 – 1,059	0,045
>35г.	2,65	2,035 – 3,445	0,0001
Родственик със захарен диабет	1,568	1,062 – 1,986	0,036
Диагностициране на ГЗД			
<10г.с.	3,493	1,963 – 5,896	0,0001
10-20г.с.	2,933	2,311 – 4,307	0,0001
21-28г.с.	1,152	0,915 – 1,549	0,089
>28г.с.	0,895	0,678 – 1,045	0,253
ИТМ преди бременността			
<25кг/м2	0,949	0,756 – 1,354	0,967
25-30 кг/м2	1,45	1,008 – 2,156	0,048
>30кг/м2	2,412	1,319 – 4,986	0,001

XII. ПРОСПЕКТИВНО ПРОУЧВАНЕ

Проучването бе проведено 6 до 12 седмици след приключване на бременността, при 100 жени с ГЗД. За оценка на въглехидратния метаболизъм използвахме провеждането на повторно ОГТТ. При 6 (6%) от жените с ГЗД се установиха данни за новоизявен ЗД, при 7 (7%) - НГГ, 12 (12%) - НГТ и при 4 (4%) - комбиниран НГГ и НГГ), (фиг. 17). Рискът за прогресия към въглехидратни нарушения след бременността се увеличава 3,8 пъти при стойност на кръвната захар по време на скрининга >5.8 ммол/л (OR 3,8) и 2,9 пъти при установяването на ГЗД преди 24г.с. (OR 2,9).



Фигура 17. Разпределение на жените провели ОГТТ 6-12 седмици след приключване на бременността според въглехидратната обмяна

ОБСЪЖДАНЕ

Честотата на ГЗД сред неселектирана група бременни варира от 1.4% до 17% в световен мащаб и зависи от изследваната етническа популация. Резултатите от проучването HAPO показват 17,8% честота на ГЗД. Както по света, така и в България липсват единни критерии за диагноза на ГЗД. Резултатите от нашето проучване сред рисковата група бременни показаха най-висока честота на ГЗД – 29,1%, използвайки критериите на IADPSG, а най-ниска – 10,8% и 10,9% според критериите на EASD и CDA. Подобно на нашето изследване върху рисковата група бременни жени е проведено само едно проучване в Холандия. Използвайки критериите на WHO, получената от тях честота на ГЗД от 24,2% е малко по-висока от нашата – 17,1%. Това показва, че ако бъдат приложени критериите на IADPSG установената честота ще бъде дори по-висока от установената в нашата селектирана популация.

Макар в определението за ГЗД да се включва всяко нарушение във въглехидратната обмяна, според препоръките на IADPSG, бременните, чиито стойности на кръвната захар на гладно и в хода на проведения ОГТТ отговарят на критериите за поставяне на диагноза ЗД трябва да бъдат смятани не като ГЗД, а отнесени към диагноза неразпознат ЗД преди бременността. Нашите резултати показват, че 10% (29) от жените с ГЗД би трябвало да бъдат пречислени към жените със ЗД преди бременността. Сходни са и резултатите от проучването HAPO.

Нашите резултати показват, че при използването на IADPSG критериите се пропускат само 13 (7,3%) от случаите с ГЗД, установени от критериите на WHO. Това се дължи на факта, че критериите на WHO поставят диагноза ГЗД и при стойност на кръвната захар на 120 минута в хода на ОГТТ над 7,8 ммол/л, докато IADPSG над 8,5 ммол/л. При използване на останалите критерии, дялът на недиагностицираните случаи достига до 18,4%. Сходни резултати са получени от Agarwal и колектив преди въвеждането на IADPSG критериите (2005г.). Масовото въвеждане на критериите на IADPSG по света ще доведе до заличаване на разликите по отношение на диагнозата.

По-ниските стойности на кръвната захар за поставяне на диагноза ГЗД при IADPSG критериите са предложени на базата на доказана линейна зависимост между нея и

увеличаване на теглото на новородено >90 персентил, С-пептида от пъпна връв и мастната тъкан. При използването на ADA критериите, преди въвеждането на IADPSG критериите, сме пропуснали 125 случая на ГЗД, при които установихме 14% честота на макрозомия. Въпреки това, както чрез критериите на ADA, така и на IADPSG доказахме висока честота на макрозомия и приложение на Цезарово сечение като метод на родоразрешение при жените с ГЗД.

Удвояването на честотата на ГЗД при използването на IADPSG критериите поставя въпроса за свръхдиагностика и свързаните с това допълнителни прегледи и изследвания. От друга страна, обхващането на всички жени с ГЗД е полезна с оглед дълготрайната прогноза за намаляване на честотата на ЗД на по-късен етап от живота при майката и новороденото. Това е изключително актуално от гледна точка на непрекъснато увеличаващата се честота на захарен диабет тип 2 по света.

Критериите на IADPSG препоръчват провеждането на масов скрининг за ГЗД, но еднократното определяне на кръвна захар на гладно може да насочи към необходимостта от провеждане на ОГТТ. Ние доказахме, че жените със стойности на КЗГ ≥ 5.1 ммол/л могат да бъдат определени като ГЗД, поради високата специфичност 100% на IADPSG критериите. При тях теоретично не е необходимо да се проведе ОГТТ. Въпреки това, ОГТТ има смисъл за пълно и по-точно потвърждаване на диагнозата. Доказахме още висока чувствителност на тези критерии за изключване на ГЗД при стойности на КЗГ ≤ 4.4 ммол/л. Само 4,8% от бременните жени при тези стойности остават погрешно определени като здрави, при липса на проведено ОГТТ. Според НАРО проучването, рискът от усложнения за фетуса и новороденото е много нисък, когато КЗГ е под 4.4 ммол/л. На базата на получените от нас резултати можем да кажем, че въвеждането на тези критерии в клиничната практика ще намали необходимостта от провеждането на ОГТТ при 51.3% от всички бременни жени или поне при 28% (КЗГ <4.4 ммол/л). Това би имало голямо икономическо значение и ще намали разходите за скрининг. Въз основа на посочените резултати предлагаме определяне на КЗГ като първа стъпка и ориентир за провеждането на ОГТТ.

За разлика от ЗД, където HbA1c се използва като рутинен диагностичен показател, то значението му за диагнозата ГЗД не е доказано. Редица проучвания и метаанализи доказват връзка между HbA1c и ГЗД при стойности на показателя под характерните за ЗД. Ние доказахме значимо по-високи нива на HbA1c в групата с ГЗД. Оптимална чувствителност (64,7%) и специфичност (62%) доказахме при прагова стойност при прагова стойност на HbA1c \geq 5.6%. В подкрепа на избраната от нас прагова стойност са и идентичните резултати на Mathiesen и колектив, които наблюдават 3-кратно увеличен риск от макрозомия на плода и 6-кратно по-висок риск от неонатална хипогликемия при тези случаи. Rajput и колектив установяват оптимална чувствителност и специфичност при стойност на HbA1c 5,45%. В около 1/3 от случаите получихме фалшиво негативни, а в друга 1/3 фалшиво позитивни резултати. Считаме, че самостоятелното използване на този показател не може да бъде препоръчан за поставяне на диагнозата ГЗД. При стойности на HbA1c между 5-6% трябва да се проведе ОГТТ. Физиологичните промени, свързани с бременността, особено анемията, намаляват диагностичната стойност на HbA1c за поставяне на диагнозата ГЗД.

В нашето проучване оценихме значението на основните рискови фактори за ГЗД сред българките. Доказахме, че бременните жени на възраст между 30-34 имат 2,245 пъти по-висок риск за развитие на ГЗД спрямо възраст <29 години. Този риск се запазва и при възраст >35 години. Подобни резултати са установени и от други колективи. Една от вероятните причини е влошаването на инсулиновата секреция и намаляване на инсулиновата чувствителност с възрастта. При отсъствие на други рискови фактори, възрастта на жената остава единствен ориентир за целенасочено търсене на ГЗД.

Фамилната обремененост от един от най-добре проучените рискови фактори за развитие на ЗД тип 2. Нашите резултати показват 1,394 пъти по-висок риск за развитие на ГЗД при наличие на родственик със ЗД тип 2. Разгледани поотделно - 1.5 пъти е по-висок риск при бременни с първостепенен родственик със ЗД тип 2 и 1,1 пъти по-висок риск при второстепенен родственик. Рискът се увеличава с 2,253 пъти при жените с първостепенен и второстепенен родственик със ЗД тип 2. Танкова и колектив също установяват значимо повишение на риска за развитие на предиабет и ЗД тип 2 при българи с фамилна

обремененост. Това отговаря на резултатите при бременните жени. При анамнеза за родственик със ЗД е необходимо провеждане на ОГТТ.

Случайно установена по-висока стойност на кръвната захар увеличава риска за ГЗД с до 3,883 пъти. Това също съвпада с резултатите на Танкова и колектив за по-висок риск за развитие на предиабет и ЗД сред рисков контингент. Нашите резултати ни дават основание да препоръчаме при случайно установена повишена кръвна захар, тя да бъде периодично проследявана като независим рисков фактор за развитие на бъдещи въглехидратни нарушения по време и след бременността.

Съобщава се, че СПКЯ е свързан с висока честота на ГЗД в резултат на ИР. Ние установихме 1,202 пъти по-висок риск за развитие на ГЗД, но не доказахме статистическа достоверност. Данните на други автори са противоречиви, като повечето от тях установяват значима връзка. От друга страна, при тези жени нуждата от асистирана репродукция непрекъснато нараства. Според нашите резултати, жените след IVF/ICSI имат 2,123 пъти по-голям риск за развитие на ГЗД. Сходни са и данните публикувани от Sebastiani и колектив.

Друг водещ рисков фактор за развитието на ГЗД е анамнезата за репродуктивни неудачи. Според нашите резултати, това покачва риска с до 1.448 пъти. По-вероятно е хипергликемията да води до репродуктивни неудачи, а не те до въглехидратните нарушения.

Нашите резултати потвърждават голямото значение на наднорменото телесно тегло и затлъстяването преди бременността за развитие на ГЗД. При ИТМ 25-29,9кг/м² рискът нараства с 1,629 пъти, а при ИТМ >30кг/м² се увеличава 4,162 пъти. Подобни резултати се установяват и в проведени изследвания относно риска за развитие на ЗД. Танкова и колектив установяват, че наднорменото телесно тегло е по-важен рисков фактор за изява на предиабет и ЗД, отколкото затлъстяването. Въз основа на нашите данни, ние препоръчваме провеждането на скрининг за ГЗД не само при затлъстяване, но и при наличие на наднормено телесно тегло преди бременността. Така дялът на диагностицирани ГЗД ще бъде най-висок.

Нашите резултати потвърдиха и съобщените от други автори по-високи нива на кръвната захар на гладно, серумния инсулин, HOMA IR и по-ниски на HOMA-%B в групата с ГЗД. Това допълнително доказва тезата за основните патогенетични механизми на ГЗД – наличие на β -клетъчна дисфункция и инсулинова резистентност.

Гестационната дислипидемия се среща при голяма част от бременните жени, което бе доказано и при изследваните от нас бременни - 48%. Гестационната дислипидемия се характеризира с по-високи нива на HDL-холестерол, както по наши, така и данни на други изследователски групи. Доказахме по-високи серумни нива на триглицеридите при жените с ГЗД, които най-вероятно имат алиментарен характер.

Средното артериално налягане по време на бременността се смята за по-добър показател в сравнение със систолното и диастолното артериално налягане поотделно. Нашите резултати, както и тези на други автори показват по-високи стойности на този показател при жените с ГЗД. Доказахме, че паралелно с по-високите стойности на САН, се наблюдава и по-висока честота на гестационна хипертония – 20 с/у 4,2% съответно при жените със и без ГЗД. Преeklampсия регистрирахме при 7% от пациентките с ГЗД спрямо 2,6% в контролната група. При тези жени се обсъжда повишен сърдечно-съдов риск.

Доказахме по-високи стойности на hsCRP при ГЗД в сравнение с контролите. Това може да се обясни с ИР и свързаното с нея нискостепенно възпаление. Thomann и колектив установяват повишение на CRP през трети триместър на бременността, което може да се свърже с по-голямо натрупване на мастна тъкан в този период. Въпреки нарастването на hsCRP не намираме за обосновано рутинното изследване на hsCRP в клиничната практика.

Доказано е, че адипоцитокините са свързани с ИР, която е ключов механизъм в патогенезата на ГЗД. Литературните данни по отношение на серумените и плазмените им нива по време на бременност са противоречиви. Това се обяснява с разлика в методиката на определяне, както и с различия в броя, гестационната седмица и етническата група на изследваните жени.

Подобно на повечето автори, ние доказахме по-ниски адипонектинови нива в групата с ГЗД. Допълнително установихме, че нивото на адипонектина се задържа в по-

ниски стойности 6 до 12 седмици след приключване на бременността, вероятно свързано с отпадане на секрецията на адипонектин от плацентата.

Докладвани са различни нива на лептина - повишени, непроменени или дори намалени. В нашата група с ГЗД доказахме по-високи стойности на лептина, както по време на бременността, така и след нейното приключване. Това може да бъде обяснено с ИР и промените в ИТМ.

Апелинът бе също по-висок при жените с ГЗД, за което докладват и някои други автори. Voucher и колектив, наблюдават високи нива на апелин само в началото на бременността. Те стигат до извода, че апелинът може би няма връзка с хиперинсулинемията и затлъстяването.

Оценихме диагностичната стойност на адипоцитокините. Доказахме, че праговата стойност на адипонектина $8,2\mu\text{g/ml}$ може да изключи ГЗД с чувствителност 83,6% и специфичност 56,6%. Сходни резултати установяват и Vitoratos и колектив и Tsai и колектив. Прагова стойност на лептина $28,7\text{ng/ml}$ също може да изключи ГЗД с ниво на чувствителност 81,2% и специфичност 64,2%. Нашите данни показват, че включването на адипонектина и лептина в диагностични алгоритъм на ГЗД биха били полезни, но имат само допълнително значение за диагнозата ГЗД. Определянето на апелина няма диагностична стойност.

Неуспорима е връзката между нивото на PAPP-A и въглехидратната обмяна, макар че нито едно от проведените проучванията не може да обоснове дали въглехидратните нарушения водят до ниски нива на PAPP-A или ниските нива на PAPP-A водят до въглехидратни нарушения. Ние дозахме по-ниски серумни нива на PAPP-A при жените с ГЗД подобно на други изследователски колективи. Прагова стойност на коригирания PAPP-A $0,7\text{ MoM}$ може да изключи ГЗД с ниво на чувствителност 62,9% и специфичност 54,6%. Сходни резултати се установяват и от Lovati и колектив. Препоръчваме оценката му само като допълнителен маркер за диагнозата ГЗД.

Хетерогенността на ГЗД налага типизиране на бременните чрез изследване антителата, насочени срещу β -клетките на панкреаса или някои от нейните компоненти. Автоантителата (ААт) срещу панкреасната β -клетка предхождат клиничната изява на ЗД

тип 1. По тази причина те се използват освен за диагностика на типа захарен, но и като маркери за риск от изява на автоимунен ЗД /тип 1/. При 10% от бременните с ГЗД доказахме едно позитивно антитяло, при 2,2% две антитела. Други автори съобщават честота на поне едно антитяло 16-18%. Висока честота - 38,8%, на поне едно антитяло установяват при проучване в Сардиния, което авторите обясняват с високата честота на автоимунните заболявания сред населението. Установената от нас честота 4,4% за GAD-65 автоантитела съответства на резултатите от проучвания в други Европейски страни – 2,2% за Дания, 3% за Швейцария. Същата честота доказахме за IA-2 антителата (4,4%). Честотата на IAA антитела бе 3,3%, подобно в Дания - 2,9% положителни. Въпреки, че честотата на антителата срещу β -клетките на панкреаса е ниска, тирозин фосфатазни антитела се установяват в предиабетната фаза на ЗД тип 1 и корелират с бързата прогресия на заболяването. Те са и рисков фактор и за ЗД тип 1 в постпарталния период. Ето защо, ние препоръчваме изследването на ИАт при клинично съмнение за риск от ЗД тип 1 – по-ниско или нормално телесно тегло и млада възраст. Трябва да се има предвид и така наречения „имунологичен парадокс“ на бременността, при който има супресия на клетъчно-медириания имунитет с цел имплантация и инвазия на трофобластта. Това може да обясни развитието на ЗД тип 1 до 1 година след приключването на бременността при две жени, при които не установихме позитивни антитела.

Оценихме значението на различни генетични маркери за появата на ГЗД. Доказахме връзка между ГЗД и честия честият алел (C) на rs266729. Този полиморфизъм се намира в промоторния участък на AdipoQ, в позиция -11377 и представлява замяна на базата цитозин с гуанин /C с G/. Установено е, че в хода на бременността концентрацията на адипонектина в кръвта намалява, което е резултат от понижена експресия на AdipoQ като това намаление е по-значително при жени с ГЗД. В подкрепа на това твърдение, нивата на серумния адипонектин се запазват ниски след раждането. Въпреки че асоциацията на полиморфния вариант rs266729 със ЗД тип 2 е обект на усилен проучвания, данните за ефекта му върху риска от появата на това заболяване не са еднозначни. Според някои автори носителите на редкия алел (G) са предразположени към развитието на затлъстяване, метаболитен синдром и захарен диабет тип 2, а според

други - такъв ефект се наблюдава за честия алел (С). Данните от литературата са за значението на вариантите на AdipoQ са малко и противоречиви, включително и във случаите с ГЗД. Нашите резултати подкрепят тезата, че присъствието на честият алел на полиморфния вариант rs266729 повишава риска от поява на ГЗД, докато редкият алел, G, има протективен ефект. В изследваната извадка не установихме статистически значима асоциация на ГЗД с останалите два варианта в адипонектиновия ген. От друга страна, статистическите изчисления показват, че при здравите жени по-често срещан е хаплотипът GTG, съставен от редкия алел на промоторния вариант rs266729 и честите алели на промоторния rs2241766, и интронния rs1501299. Като една от причините за липсата на връзка с останалите едно-нуклеотидни полиморфизми може да се обсъжда и с малкия брой изследвани жени и с особеностите на проучената група.

Оценихме изхода от бременността. Доказахме по-високо тегло на новороденото и по-често наличие на макрозомия в групата с ГЗД. Добре известни са метаболитните рискови фактори при новородените с по-високо от очакваното тегло. Макрозомията на плода е нежелан изход от бременността, тъй като увеличава риска от травма по време на раждането, затлъстяване и ЗД на по-късен етап от живота. Редица автори свързват наличието на макрозомия с нивото на гликемичен контрол на майката. Постигането на добър гликемичен контрол намалява честотата на макрозомията. Дялът на проведено Цезарово сечение е висок, най-вероятно и във връзка с нарастващия процент на жените, желаещи посочения метод за родоразрешение.

Обучението относно начина на живот и хранителния режим са водещите фактори за поддържането на добър гликемичен контрол при жените с ГЗД. Те са и първа стъпка в препоръките за лечение на предиабета и захарния диабет. Нашите резултати показват, че диетичния режим бе достатъчен при 83% от жените с ГЗД. Резултатите от проучването ACHOIS показват, че при 20% от жените е необходимо инсулиново лечение, а Gamer и колектив - 24%. Трябва да се има предвид, че дялът на инсулиново лечение все повече намалява, поради увеличаващото се приложение на метформин и СУП.

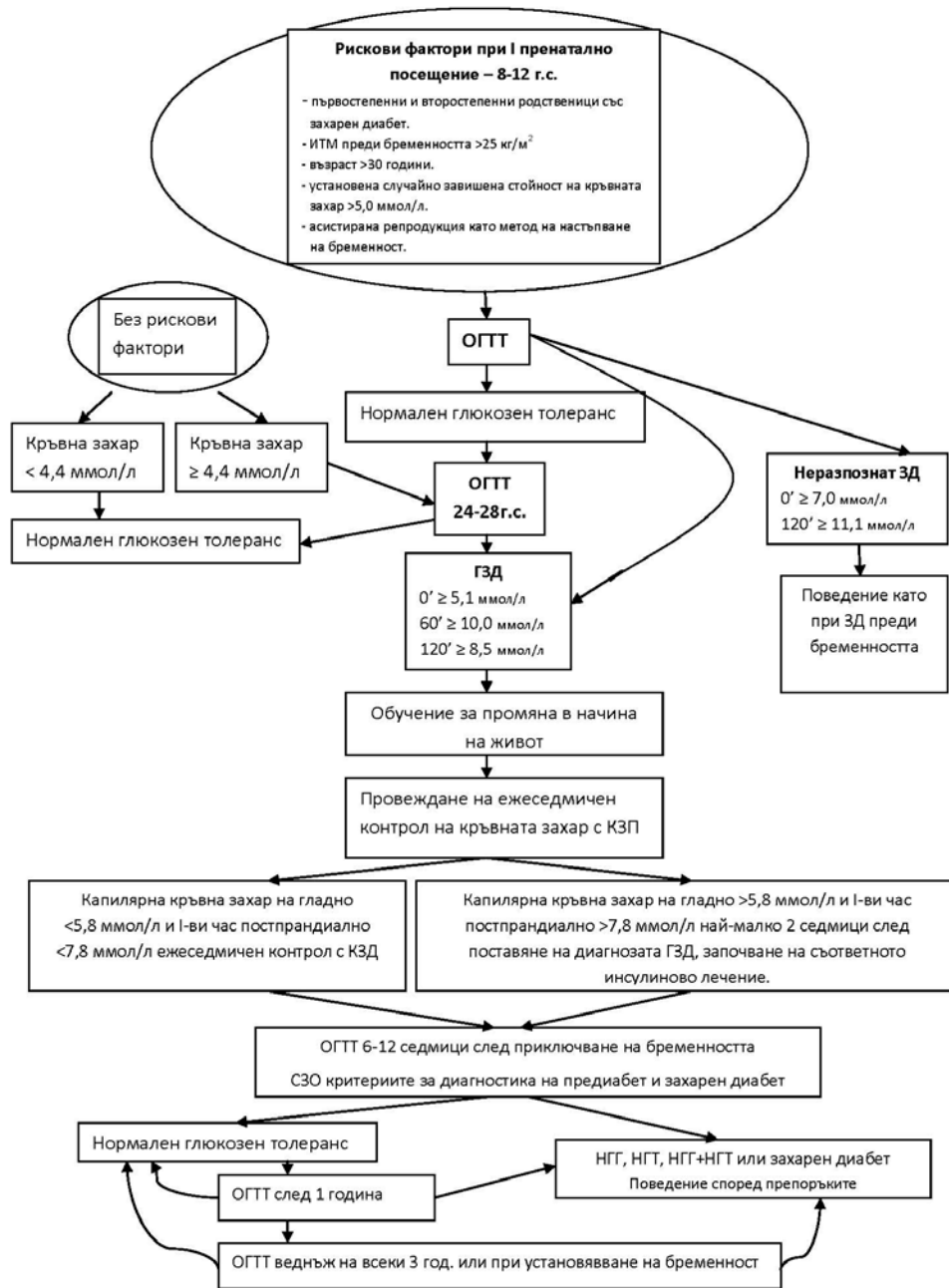
Ние доказахме, че необходимостта от инсулиново лечение нараства 3,493 пъти при появата му в ранна гестационна възраст, 2,421 – при затлъстяване преди бременността и

2,65 пъти при възраст на майката над 35 години. Тези резултати са сходни с проучването НАРО, където са обхванати над 25 000 бременни.

Проследяването на жените с ГЗД е важно, но изключително трудно. При 25% от жените с ГЗД доказахме нарушение във въглехидратната обмяна – НГГ – 7%, НГТ - 12%, НГГ+НГТ – 5% и ЗД – 6% в ранния постпартален период (6-8 седмица). Сходна честота се съобщава и от други автори. Най-важните фактори, предсказващи въглехидратните нарушения след бременността са: стойност на кръвната захар по време на скрининга >5.8ммол/л (OR 3,8) и установяването на ГЗД преди 24г.с. (OR 2,9). Други автори, освен тези фактори, посочват майчиното затлъстяване.

СТРАТЕГИЯ ЗА СКРИНИНГ И ПОДХОД ПРИ ГЗД

На базата на проведеното крос-секционно и проспективно проучване предлагаме следната стратегия за скрининг и поведение при ГЗД:



ОСНОВНИ ИЗВОДИ

1. Наличието на поне един рисков фактор при бременни жени е свързан с висока честота на ГЗД (29%). Критериите на IADPSG са с най-добра диагностична стойност. Кръвната захар на гладно няма самостоятелно значение за поставяне на диагноза ГЗД, но е насочващ фактор за необходимостта от провеждане на ОГТТ.
2. Прагова стойност на HbA1c над 5.6% съчетава оптимална чувствителност и специфичност за диагностициране на ГЗД.
3. Рискът за развитие на ГЗД нараства с възрастта - 2,2 пъти над 30 години, с телесното тегло преди бременността - 1,6 пъти при наднормено и 4,2 при затлъстяване, както и с установяването на случайно завишена стойност на кръвна захар – 3,9 пъти.
4. При жени с ГЗД се наблюдават промени в базалната инсулинова секреция и индиректните показатели за оценка на инсулинова резистентност и β -клетъчна функция (НОМА индекс), характерни за захарен диабет тип 2.
5. При жени с ГЗД нивото на адипонектин е по-ниско спрямо контролна група бременни жени, а това на лептин по-високо. Тази тенденция се запазва и след приключване на бременността.
6. Нивото на PAPP-A е по-ниско при жени с ГЗД. Прагова стойност на PAPP-A 0.7 е също ранен маркер за ГЗД.
7. При 10% от жените с ГЗД се установяват автоантитела към β -клетката на панкреаса, което е в подкрепа на диагнозата захарен диабет тип 1 при тях.
8. Полиморфизмът rs266729 в гена за адипонектин и честият алел С е свързан с изява на ГЗД, докато минорният G алел има протективна роля за развитието на състоянието.
9. При жени с ГЗД нараства процента на Цезарово сечение като метод за родоразрешение. При тях се наблюдава по-голямо тегло на новороденото и по-висока честота на макрозомията.

10. Нарушения в глюкозния толеранс след приключване на бременността остават при 25% от случаите с ГЗД (НГГ – 7%, НГТ – 12%, НГГ+НГТ – 5% и захарен диабет – 6%). Най-важните предсказващи рискови фактори са стойност на кръвната захар на гладно по време на скрининга >5.8 ммол/л и установяването на ГЗД преди 24 г.с.

ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

I. ПРИНОСИ С НАУЧНО-ТЕОРЕТИЧЕН ХАРАКТЕР

1. Настоящото проучване установява високата честота на ГЗД за българската популация – 29%.
2. Извършена е комплексна оценка на ГЗД включваща широк набор от фактори и маркери за оценка на въглехидратната обмяна.
3. Анализирани са различни рискови фактори за изява и протичане на ГЗД сред рисковата група бременни жени и са оопределени тези с най-висок риск.
4. Извършена е комплексна оценка на адипоцитокени при жени с ГЗД по време на бременността и след нейното приключване, които са сравнително слабо проучени досега.
5. Анализирани са комплекс от антителата насочени срещу β -клетките на панкреаса при бременни жени с ГЗД.
6. Направена е оценка на генетични показатели при жени с ГЗД и контролна група бременни, които са слабо проучени.
7. Анализирана е връзката между ГЗД и изхода от бременността.
8. Проведено е проспективно проследяване на нарушенията в глюкозния толеранс 6-12 седмици след приключване на бременността.

II. ПРИНОСИ С ПОТВЪРДИТЕЛЕН ХАРАКТЕР

1. Настоящото изследване потвърждава необходимостта от провеждане на скрининг за ГЗД. При ограничени ресурси за масов скрининг препоръчваме да се насочи към бременни жени с повишен риск за развитие на състоянието.

III. ПРИНОСИ С НАУЧНО-ПРИЛОЖЕН ХАРАКТЕР

1. Разработена е цялостна стратегия за скрининг и поведение при жени с ГЗД в българска популация.
2. Установени са ролята, тежестта и значението на голям набор от маркери и рискови фактори.
3. Не се налага рутинно генетично изследване при пациентки с ГЗД.
4. Изработен е диагностичен алгоритъм за ГЗД при бременни жени. На базата на получените резултати са дадени препоръки за лечение при жени с ГЗД.

НАУЧНИ ИЗЯВИ

I. ПУБЛИКАЦИИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИЯТА:

Публикации в български списания:

1. **Бояджиева М.**, Танкова Ц.. Диабет и бременност, *сп. Наука Ендокринология*, бр.4 2008
2. **Бояджиева М.**, И. Атанасова, Ц. Танкова, К. Тодорова, В. Димитрова, С. Захаријева. Адипоцитокини при нормална и усложнена с гестационен захарен диабет бременност. *сп. Ендокринология*, бр. 1 2010, стр. 30-40
3. **Бояджиева М.**, Атанасова И., Димитрова В., Захаријева С., Танкова Ц., Грозева Г., Тодорова К., Стойкова В., Кедикова С. Скрининг за гестационен захарен диабет в България-предварителни резултати, *сп. Акушерство и Гинекология*, бр.3 2010, стр.3-9;
4. **Бояджиева М.**, И. Атанасова, С. Захаријева, Ц. Танкова, Д. Марков, В. Димитрова, В. Стойкова, С. Кедикова, Е. Павлова, С. Иванов. Роля на плазмената кръвна захар на гладно в диагностичния алгоритъм на Гестационния захарен диабет, *сп. Акушерство и Гинекология*, бр. 3 2011, стр. 3 – 8;
5. **Бояджиева М.** И. Атанасова, С. Захаријева. Честота на автоимунния гестационен захарен диабет, *сп. Ендокринология*, бр. 4 2012, стр. 212-218
6. **Бояджиева М.** Краткосрочни и дългосрочни рискове при деца, родени от жени с анамнеза за гестационен захарен диабет, *сп. Акушерство и Гинекология*, бр. 7 2012, стр. 4-8
7. **Бояджиева М.** Лечение с инсулинови аналози по време на бременност, *сп. Наука Ендокринология*, бр. 2 2013

Публикации в международни списания:

1. **Boyadzhieva M.**, Atanasova I., Zacharieva S., Tankova T., Dimitrova V.. Comparative analysis of current diagnostic criteria for gestational diabetes mellitus *Obstet Med* June 2012 5:71—77; published ahead of print 5 April 2012,doi:10.1258/om.2011.110073

2. Beltcheva O., **Boyadzhieva M.**, Atanasova I., Angelova O., Kaneva R., Mitev V.. Single nucleotide polymorphisms in the AdipoQ gene are associated with an increased risk of gestational diabetes. Archives of Gynecology and Obstetrics-in press.
3. **Boyadzhieva M.**, Atanasova I., Zacharieva S., Kedikova S.. Adipocytokines in normal and complicated with gestational diabetes mellitus pregnancy. Journal of Endocrinological Investigation-in press.

II. Участия в конгреси и научни конференции във връзка с дисертацията

Национални конгреси и симпозиуми:

1. **Бояджиева М.**, И. Атанасова, Г. Грозева, В. Димитрова, Д., Марков, В. Стойкова, С. Кедикова, Ц. Танкова. Оценка на някои метаболитни параметри при бременни жени с повишен риск за развитие на гестационен захарен диабет, XXIX Национална Акушерска Конференция, 24-26.06.2010, Поморие.
2. **Бояджиева М.**, И. Атанасова, В. Стойкова, Д. Марков, В.Димитрова, К.Тодорова, Ц. Танкова. С. Захариева., Кедикова С. Скрининг за гестационен захарен диабет в България – предварителни резултати. IX^{ти} Национален конгрес по Ендокринология, 15-17.04.2010, Пловдив
3. Стойкова В., Д. Марков, Ж. Карагйозова, **М. Бояджиева**, С. Иванов, В. Дяволов. Телесно тегло и риск от развитие на прееклампсия, XII Национален конгрес по Акушерство и Гинекология, 07 – 10.10.2010, Пловдив
4. **Бояджиева М.**, И. Атанасова, Д. Марков, В. Димитрова, С. Захариева, К. Тодорова, С. Кедикова, В. Стойкова, Ц. Танкова, Г. Грозева. Влияние на индекса на телесна маса преди бременността върху развитието на гестационен захарен диабет. XII Национален конгрес по Акушерство и Гинекология, 07 – 10.10.2010, Пловдив
5. **Бояджиева М.**, И. Атанасова, С. Захариева, Ц. Танкова, Д. Марков, В. Димитрова, К.Тодорова, С. Кедикова, В. Стойкова. Необходимо ли е провеждане на орален глюкозо – толерантен тест на всички бременни жени? XIV Национален симпозиум по Ендокринология, 9 – 11.06.2011, Пловдив

6. **Бояджиева М.**, И. Атанасова, С. Захаријева, Ц. Танкова, Д. Марков, В. Димитрова, К.Тодорова, С. Кедикова, В. Стойкова. Влияние на новите диагностични критерии върху честотата на гестационния диабет в България, XIV Национален симпозиум по Ендокринология, 9 – 11.06.2011, Пловдив
7. **Бояджиева М.**, И. Атанасова, Цв. Танкова, С. Захаријева, В. Стойкова. Рискови фактори за развитие на гестационен захарен диабет. X Национален конгрес по Ендокринология, 11 – 14.04.2013, Пловдив

Международни участия в конгреси:

1. **Boyadzhieva M.**, I. Atanasova, T. Tankova. Comparison of two diagnostic models for assessment of gestational diabetes mellitus. 14th World Congress of Gynecological Endocrinology, 4-7.03.2010, Florence, Italy
2. **Boyadzhieva M.**, I. Atanasova, T. Tankova, V. Dimitrova, D. Markov, V. Stoykova, K. Todorova, S. Kedikova. Screening for gestational diabetes mellitus in Bulgaria-preliminary results. 14th World Congress of Gynecological Endocrinology, 4-7.03.2010, Florence, Italy
3. **Boyadzhieva M.**, I. Atanasova, T. Tankova, S. Zacharieva, D. Markov, V. Dimitrova, V. Stoykova, S. Kedikova, K. Todorova, G. Grozeva, N. Chakarova. Assessment of metabolic parameters among pregnant women with high risk for gestational diabetes. The 6th International symposium on Diabetes and Pregnancy, 23 – 26.03.2011, Salzburg, Austria
4. **Boyadzhieva M.**, I. Atanasova, S. Zacharieva, T. Tankova, D. Markov, V. Dimitrova, V. Stoykova, S. Kedikova, K. Todorova, G. Grozeva, N. Chakarova. Adipocytokines in normal and complicated by gestational diabetes mellitus pregnancy. The 6th International symposium on Diabetes and Pregnancy, 23 – 26.03.2011, Salzburg, Austria
5. **Boyadzhieva M.**, I. Atanasova, S. Zacharieva, T. Tankova, D. Markov, V. Dimitrova, K. Todorova, G. Grozeva, N. Chakarova. Adipocytokines visfatin and apelin in normal and complicated with gestational diabetes pregnancy. Prediabetes and metabolic syndrome, 6 – 9.04.2011, Madrid, Spain
6. **Boyadzhieva M.**, I. Atanasova, T. Tankova, S. Zacharieva, V. Dimitrova, D. Markov, V. Stoykova, K. Todorova, S. Kedikova. Comparative analysis of current guidelines for evaluation

of gestational diabetes mellitus, International diabetes federation meeting, 04-08.12.2011, Dubai, United Arab Emirates

7. Beltcheva O., **M. Boyadzhieva**, I. Atanasova, O. Angelova, R. Kaneva, V. Mitev. Association of a single nucleotide polymorphism in the adiponectin gene (ADIPOQ) with gestational diabetes mellitus in Bulgarian population. European Society of Human Genetics Conference, 23-26.06.2012, Nuremberg, Germany
8. **Boyadzhieva M.**, I. Atanasova, E. Natchev, I. Sigridov, M. Mihova, S. Zacharieva, T. Tankova. Prevalence of Gestational Diabetes in IVF and spontaneous pregnancies. The^{7th} International symposium on Diabetes and Pregnancy, 14 – 16.03.2013, Florence, Italy

НАУЧНИ ПРОЕКТИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИЯТА

1. “Съвременен подход за диагностика и определяне честотата на генотипно-фенотипни корелации при пациенти с гестационен захарен диабет в България”
Проект с договор № ДО 02-7/ 2009г към МОН, Фонд Научни изследвания, участник в научния колектив.
2. “Съвременен подход за диагностика и определяне честотата на генотипно-фенотипни корелации при пациенти с гестационен захарен диабет в България”
Проект с договор № 11-Д/2009г МУ-София, Съвет по медицинска наука, водещ изследовател на проекта
3. “Адипоцитокени при нормална и усложнена с гестационен захарен диабет бременност” Проект с договор № 7-Д/2010г МУ-София, Съвет по медицинска наука, водещ изследовател на проекта

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторката изказва искрени благодарности към научните си ръководители проф. Сабина Захаријева и доц. Илияна Атанасова, както и към научното жури за помощта и приноса към настоящата работа.

По отношение на популяризиране и събирането на големия брой бременни жени, участвали в проучването благодаря на колегите акушер-гинеколози от СБАЛАГ „Майчин дом“, останалите акушеро-гинекологични болници, акушер-гинеколози от поликлиники и частни практики, колегите от УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев“. Благодаря на бременните жени, участвали в проучването. По отношение на събирането и изработването на кръвните проби бих искала да изкажа благодарности към екипите на Лаборатория по имунология и клинична лаборатория с ръководител доц. Илияна Атанасова и Радиоимунологична лаборатория с ръководител проф. Георги Кирилов. Във връзка с генетичното проучване, бих искала да благодаря на екипа от Молекулярно-медицински център и специално на Олга Белчева и д-р Радка Кънева.