

Univerzita Palackého v Olomouci

Lékařská fakulta

GESTAČNÍ DIABETES

Podíl hormonálních faktorů na regulaci glykémie

Disertační práce

MUDr. Ondřej Krystyník

III. interní klinika – nefrologická, revmatologická a endokrinologická

Školitel: prof. MUDr. David Karásek, Ph.D.

Doktorský studijní program: Vnitřní nemoci P5171

Olomouc 2023

Poděkování

Mému školiteli prof. MUDr. Davidu Karáskovi, Ph.D. děkuji za všestrannou pomoc, odborné vedení a motivaci v mém postgraduálním studiu.

Mým kolegům z diabetologického centra III. interní kliniky děkuji za přátelství a také nasazení při realizaci společných grantových projektů.

Vedoucím pracovníkům III. interní kliniky, jmenovitě prof. MUDr. Pavlu Horákovi, CSc. a prof. MUDr. Josefu Zdražilovi, CSc. děkuji za vytvoření podmínek pro můj odborný růst a vědeckou činnost.

V neposlední řadě děkuji Kateřině, Lukášovi, Šimonovi a Tobiášovi za to, že dáváte smysl všemu, co dělám.

Prohlašuji, že je tato práce shrnutím mé vlastní výzkumné činnosti. Byla vypracována samostatně s uvedením všech literárních pramenů a publikací, ze kterých bylo čerpáno. Práce byla podpořena grantovými projekty Ministerstva zdravotnictví České republiky AZV NV18-01-00139 a MZ ČR – RVO (FNOI, 00098892).

V Olomouci 8. 6. 2023

MUDr. Ondřej Krystyník

OBSAH

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ABSTRAKT | 5 |
| ÚVOD..... | 7 |
| TEORETICKÁ ČÁST | 9 |
| 1. Historie diagnostiky a léčby poruchy glukózového metabolismu v těhotenství..... | 9 |
| 1.1. Těhotenství u žen s diabetes mellitus | 9 |
| 1.2. Cesta k definici gestačního diabetu..... | 12 |
| 1.3. Vývoj screeningu gestačního diabetu v těhotenství..... | 13 |
| 2. Současný pohled na gestační diabetes a jeho patofyziologii..... | 16 |
| 2.1. Klinické aspekty gestačního diabetu..... | 16 |
| 2.2. Patofyziologie gestačního diabetu..... | 17 |
| 3. Inkretinové hormony a diabetes mellitus | 19 |
| 4. Hormony tukové tkáně a diabetes mellitus | 22 |
| 4.1. Adiponektin | 22 |
| 4.2. A-FABP..... | 23 |
| 4.3. FGF-19 | 23 |
| EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST | 25 |
| 5. Využití diagnostických kritérií GDM podle International Association of the Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG) k posouzení rozdílu v antropometrických parametrech těhotných žen a výskytu těhotenských komplikací..... | 25 |
| 5.1. Metodika | 26 |
| 5.2. Výsledky | 27 |
| 5.3. Diskuse..... | 30 |
| 5.4. Závěr | 32 |
| 6. Sekrece inkretinových hormonů u žen se zvýšenou lačnou glykemií v časně fázi těhotenství..... | 33 |
| 6.1. Metodika | 33 |
| 6.2. Výsledky | 36 |
| 6.3. Diskuse..... | 41 |
| 6.4. Závěr | 43 |
| 7. Plazmatické koncentrace vybraných adipokinů u žen s časnou diagnózou gestačního diabetu..... | 44 |
| 7.1. Metodika | 44 |
| 7.2. Výsledky | 46 |
| 7.3. Diskuse..... | 53 |
| 7.4. Závěr | 55 |
| 8. Souhrn výsledků experimentální části | 56 |
| SEZNAM ZKRATEK | 57 |
| LITERATURA | 58 |
| SEZNAM OBRÁZKŮ..... | 68 |
| SEZNAM TABULEK..... | 69 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| PŘÍLOHY | 70 |
| 9. Seznam publikací přímo souvisejících s tématem disertační práce | 70 |
| 10. Seznam publikací nepřímo souvisejících s tématem disertační práce | 70 |
| 11. Seznam ostatních publikací..... | 71 |
| 12. Kopie originálních prací souvisejících s tématem disertační práce | 73 |

ABSTRAKT

Úvod: Incidence gestačního diabetu (GDM) celosvětově narůstá. GDM je spojen s rizikem závažných mateřských a perinatálních komplikací během těhotenství, a také s rozvojem metabolických poruch v pozdějším období života matky i dítěte. Patofyziologie GDM není doposud plně objasněna, předpokládá se však významný podíl inzulinové rezistence a selhání sekrece β -buněk pankreatu. Pochopení základních principů regulace glykémie v těhotenství a časná detekce její poruchy může přispět ke snížení výskytu závažných mateřských i perinatálních komplikací.

Cíle: Zjistit, zda využití diagnostických kritérií GDM povede k určení odlišných fenotypů těhotných žen s GDM. Následně posoudit, zda je u žen s diagnózou GDM v časně fázi těhotenství přítomná abnormální sekrece inkretinových hormonů a vybraných adipokinů.

Metody: K posouzení odlišných fenotypů žen s GDM byla uspořádána retrospektivní observační studie. K posouzení abnormalit sekrece inkretinových hormonů a adipokinů sloužila studie případů a kontrol. Sekrece inkretinových hormonů byla posuzována během tolerančního testu s mixovanou stravou. Sekrece adipokinů byla srovnávána v každém ze 3 trimestrů těhotenství.

Výsledky: Zvýšená lačná glykémie (FPG \geq 5,1mmol/l) je v časně fázi těhotenství spojena s vyšším BMI, s rizikem léčby inzulinem a vyšší porodní hmotností plodu. Časně diagnostikovaný GDM nebyl provázen změnou sekrecí inkretinových hormonů (GLP-1, GIP). Byla zjištěna zvýšená hladina A-FABP a snížená hladina adiponektinu, které korelovaly s viscerální adipozitou a kontrolou glykémie (HbA1c). Časným zavedením intervencí v oblasti životního stylu a léčby inzulinem došlo v dalším průběhu těhotenství k normalizaci adipokinů na hladiny podobné těm u těhotných žen bez GDM.

Závěr: Na rozdíl od možné role endokrinní dysfunkce tukové tkáně nehraje sekrece inkretinových hormonů zásadní roli při rozvoji hyperglykémie v časně fázi těhotenství. Abnormality v sekreci adipokinů lze v dalším průběhu těhotenství ovlivnit časným zavedením nefarmakologických intervencí a léčby pomocí inzulinu.

Klíčová slova: gestační diabetes; orální glukózový toleranční test; toleranční test s mixovanou stravou; glukagonu podobný peptid 1, glukózo-dependentní inzulinotropní polypeptid; adiponektin; adipocytární protein vázající mastné kyseliny; fibroblastový růstový faktor 19

ABSTRACT

Background: The incidence of gestational diabetes (GDM) is increasing worldwide. GDM is associated with the risk of serious maternal and perinatal complications during pregnancy, and with the development of metabolic disorders later in the life of both mother and child. The pathophysiology of GDM has not yet been fully elucidated, but insulin resistance and failure of pancreatic β -cell secretion are thought to play a significant role. Understanding the basic principles of glycemic control in pregnancy and early detection of its disturbance may contribute to reducing the incidence of serious maternal and perinatal complications.

Aim: To determine whether the use of diagnostic criteria for GDM will lead to the identification of distinct phenotypes of women with GDM. Subsequently, to assess whether abnormal secretion of incretin hormones and selected adipokines is present in women with impaired fasting glucose in early pregnancy.

Methods: A retrospective observational study was organized to assess the different phenotypes of women with GDM. A case-control study was used to assess abnormalities of incretin hormone and adipokine secretion. Incretin hormone secretion was assessed during a mixed meal tolerance test in early pregnancy. Adipokine secretion was compared in each of the 3 trimesters of pregnancy.

Results: The diagnosis of GDM (FPG \geq 5.1mmol/l) is associated with higher BMI, risk of insulin treatment and higher fetal birth weight in early pregnancy. No abnormality in incretin hormone secretion (GLP-1, GIP) was present in women with GDM in early pregnancy. In contrast, increased A-FABP and decreased adiponectin levels were found to correlate with visceral adiposity and glycaemic control (HbA1c). Early introduction of lifestyle interventions and insulin treatment resulted in normalisation of adipokines later in pregnancy.

Conclusions: In contrast to the possible role of endocrine dysfunction in adipose tissue, incretin hormone secretion does not play a major role in the development of hyperglycaemia in early pregnancy. Abnormalities in adipokine secretion can be influenced later in pregnancy by early introduction of non-pharmacological interventions and insulin treatment.

Key words: gestational diabetes; oral glucose tolerance test; mixed meal tolerance test; glucagon-like peptide 1, glucose-dependent insulinotropic polypeptide; adiponectin; fibroblast growth factor 19

ÚVOD

V historii moderní medicíny nacházíme období, která díky vědeckým poznatkům zcela mění charakter a prognózu celé řady závažných onemocnění. Jedním z příkladů je i úspěšná izolace a první terapeutické použití inzulínu v letech 1921-1922. Tento objev znamenal především zásadní změnu životní prognózy pro osoby s diabetem 1. typu, pro které bylo toto onemocnění do té doby neléčitelné. Další vědecké poznání, moderní farmakoterapie a možnost samostatné kontroly kompenzace diabetu přináší osobám s diabetem naději na prodloužení délky a také kvality života. Jedním ze zásadních období života každé ženy je těhotenství. Není tomu jinak ani v případě žen, které jsou léčeny pro diabetes mellitus. Možnost úspěšné léčby diabetu dramaticky snížila četnost a závažnost komplikací pro matku i plod. V dnešní době je šance na úspěšné těhotenství ženy s diabetem téměř srovnatelná s těhotenstvím, které diabetem ovlivněno není. Tento fakt však nelze považovat za samozřejmost. K jeho dosažení je zapotřebí pečlivá příprava ženy na samotné těhotenství, dále její vysoká adherence k léčebným a režimovým doporučením, a především intenzivní multidisciplinární péče během celého těhotenství.

Celosvětová pandemie obezity a civilizačních onemocnění stojí za rostoucím počtem žen, které do těhotenství vstupují s různým stupněm poruchy glukózového metabolismu a obecně vyšší nemocností. V posledních letech také významně narůstá incidence gestačního diabetu. Přestože je provázen pouze mírnou hyperglykemií, která nespĺňuje diagnostická kritéria pro diabetes mellitus, zvyšuje riziko závažných mateřských a novorozeneckých komplikací během těhotenství. Dále je také spojen se zvýšeným rizikem rozvoje metabolických poruch (především DM 2. typu, obezity, arteriální hypertenze) a kardiovaskulárních komplikací v pozdějším období života matky i dítěte. Má tak značný přesah do celé socioekonomické sféry. Gestační diabetes se v mnoha patofyziologických ohledech podobá diabetu 2. typu. Přesné mechanismy vedoucí k poruchám metabolických dějů během těhotenství však doposud uspokojivě vysvětleny nejsou. Obecně se předpokládá různá míra kombinace inzulínové rezistence a selhání sekrece β -buněk pankreatu, jejichž důsledkem je hyperglykémie. Vlastní sekrece inzulínu a citlivost cílových tkání k jeho účinkům je mimo jiné ovlivňována hormonální aktivitou tukové tkáně a enteroendokrinních buněk zažívacího systému. Změna v sekreci hormonů, tak může mít vliv na rozvoj poruchy glukózového

metabolismu v těhotenství, včetně gestačního diabetu. Pochopení základních principů regulace glykémie v těhotenství a identifikace změn, vedoucích k časnému rozvoji gestačního diabetu, tak může perspektivně ovlivnit nejen výskyt komplikací v probíhajícím těhotenství, ale také v dalším období po porodu.

TEORETICKÁ ČÁST

1. Historie diagnostiky a léčby poruchy glukózového metabolismu v těhotenství

1.1. Těhotenství u žen s diabetes mellitus

V období před objevem a terapeutickým využitím inzulínu byly zkušenosti s těhotenstvím žen s diabetem velmi omezené. Samotná přítomnost diabetu a nemožnost jeho efektivní léčby byla totiž spojena s vysokou mírou neplodnosti. V historických pramenech byla tato skutečnost přisuzována hned několika patofyziologickým problémům, zasahujícím do oblasti endokrinologické (amenorea), gynekologické (atrofie Graafových folikulů a dělohy), a také nutriční (malnutrice a katabolismus ženy s nedostatečnou kompenzací diabetu) [1]. Na přelomu 19. a 20. století byly publikovány první kazuistické případy a málo početné soubory, popisující zkušenosti s průběhem těhotenství u žen s diabetem. Zásadním zjištěním, které z těchto raných publikací vyplývá, je velmi špatná prognóza jak pro matku, tak i pro plod. Statistikám dominuje z dnešního pohledu neuvěřitelná mateřská úmrtnost, která v té době dosahovala přibližně 60 %. Úmrtnost plodů se pak pohybovala okolo 50 % [2,3].

Zásadní vliv na pochopení vztahu diabetu a těhotenských komplikací přináší až objev inzulínu, a především jeho léčebné využití. Od té chvíle totiž významným způsobem stoupá počet těhotenství a rovněž se zvyšuje šance na jeho úspěšný průběh. Již v průběhu dvacátých a třicátých let minulého století se objevují první pokusy o restrikci sacharidového obsahu ve stravě těhotných žen. Inzulín je aplikován několikrát denně ve snaze snížit glykosurii, která je v té době hlavním ukazatelem kompenzace diabetu [4]. Poměrně záhy se dostavuje první významný úspěch. Cílená a intenzivní léčba diabetu v těhotenství má velmi dobrý efekt na mateřskou mortalitu, která se koncem 20. let pohybuje na úrovni 12 %. Jeden z hlavních důvodů tohoto poklesu můžeme hledat ve sníženém výskytu závažné diabetické ketoacidózy a hypoglykemického kómatu těhotných žen. Na rozdíl od příznivého ovlivnění mateřské úmrtnosti se však pravidelná aplikace inzulínu z počátku neprojevuje stejně významným poklesem úmrtnosti perinatální. Ta se i přes léčbu inzulínem stále pohybuje okolo 40 % [5,6].

Z pohledu zjevného diabetu, který se manifestuje až během těhotenství, se již v této době začínají formulovat klinické závěry, které budou mít v následujících desítkách let zásadní přínos pro hlubší pochopení vlivu hyperglykémie na těhotenství. Lze je shrnout v následujících bodech [4,6]:

- dobrá glykemická kontrola diabetu snižuje perinatální úmrtnost
- diabetes manifestující se prvně v těhotenství zvyšuje perinatální úmrtnost
- typickým obdobím pro manifestaci diabetu v těhotenství je 5. – 6. měsíc
- manifestace diabetu v těhotenství je spojena s mírným nebo nepoznaným diabetem před těhotenstvím a výskytem diabetu v rodině

V období po druhé světové válce začínají v Evropě i v USA vznikat specializovaná centra, která se zaměřují na léčbu diabetu v těhotenství. Cílem specializované léčby má být snížení perinatální úmrtnosti a zlepšení celkové prognózy těhotných žen s diabetem. Jednu z nejucelenějších analýz přináší koncem 40. let Priscilla White z diabetologického centra Joslin's clinic v Bostonu. Ta si ve své analýze všímá příčin a souvislostí úmrtí plodů diabetických žen. V souboru 439 případů popisuje 18 % perinatální mortalitu, 25 % těhotenství je ukončeno spontánním potratem. Přibližně 80 % z těchto mrtvých plodů vykazuje známky makrosomie. S ohledem na přítomné vaskulární komplikace byla perinatální mortalita vyšší u žen, které byly pro diabetes léčeny delší dobu. Z analýzy Priscilly White vyplývá, že přežije pouze 20 % novorozenců, pokud je doba trvání diabetu těhotné ženy více jak 20 let. Současně si také všímá častějšího výskytu porodu mrtvého plodu u žen s přítomným renálním postižením a hypertenzí. Dvě třetiny intrauterinních úmrtí plodu se odehrají mezi 36. a 40. týdnem těhotenství. Toto zjištění vede v následujících letech k pečlivému plánování porodu všech těhotných žen s diabetem [7,8].

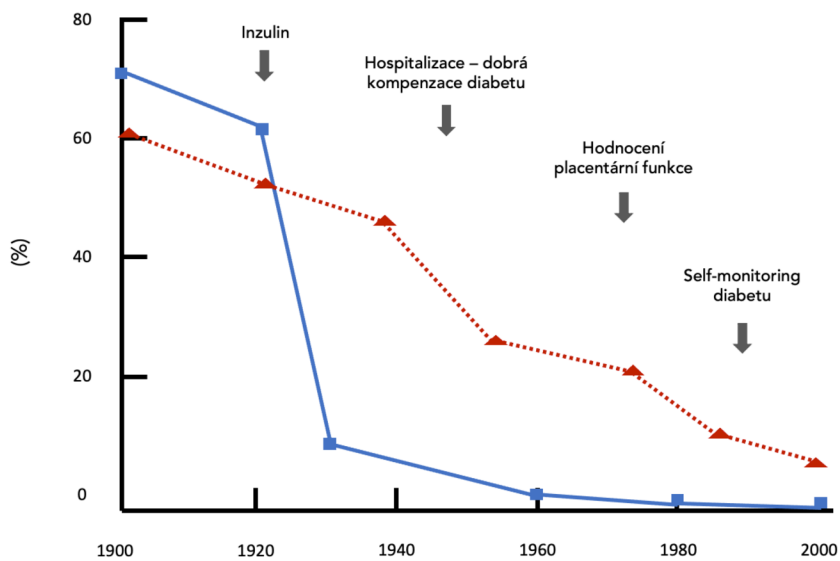
Poznatky, které jsou v centrech v průběhu poválečných let získávány, vedou k formulaci opatření a léčebných režimů, které v dalších 30 letech postupně snižují perinatální mortalitu. Ze statistického pohledu se perinatální mortalita v polovině 20. let pohybovala okolo 38 %. Koncem 50. let je z dostupných prací patrný její pokles přibližně na 15–20 % [9]. Je na místě uvést, že významná část postupů a doporučení, která byla v této době vytvořena, je platná i dnes. Lze je popsat ve třech základních oblastech [1]:

- 1) dobrá kontrola diabetu – definovaná strava s omezeným příjmem sacharidů; intenzifikovaný inzulinový režim
- 2) časná hospitalizace těhotných žen – kontrolní stanovení glykemií po jídle, úprava dávek inzulinu, plán porodu a multidisciplinární péče
- 3) porod mezi 37. a 38. týdnem těhotenství

Přestože je v tomto období mateřská úmrtnost již velmi nízká, všímají si některé práce souvislosti mezi těhotenstvím a dalšími komorbiditami, které dnes považujeme za specifické komplikace diabetu. Jde především o progresi diabetické retinopatie, která nezdědka končila slepotou, a významné snížení šance na přežití plodu, pokud byla u matky přítomná nefropatie [10].

V průběhu 70. a 80. let se díky technologickému pokroku a zařazení zobrazovacích a nových laboratorních metod významným způsobem zlepšuje prenatální diagnostika. V oblasti diabetologie pak přichází možnost self-monitoringu glykemií a tím i flexibilní inzulinové léčby. Ta umožňuje ženám s diabetem dosahovat lepší úrovně kontroly diabetu, která je pak ve studiích provázena snížením rizika závažných perinatálních komplikací, mezi které řadíme především makrosomii plodu s rizikem porodního poranění, syndrom dechové tísně novorozence a novorozeneckou hypoglykémii [11,12].

Obrázek 1. Vývoj mateřské a perinatální mortality po objevu inzulínu.



Mateřská úmrtnost (modrá), perinatální úmrtnost (červená). Upraveno podle Mestman J. [1]

1.2. Cesta k definici gestačního diabetu

To, že problematiku diabetu a těhotenství nelze vnímat pouze z pohledu žen, kterým je diagnóza diabetu stanovena ještě před samotným těhotenstvím, bylo patrné již ve druhé polovině 19. století. V této době se totiž v odborné literatuře objevují kazuistické případy, u kterých došlo k rozvoji klinických symptomů diabetu až v průběhu těhotenství [2]. Dominantním laboratorním vyšetřením, které v té době sloužilo k diagnostice diabetu, bylo vyšetření glykosurie. Počátkem dvacátého století bylo zjištěno, že se u některých těhotných žen v různé míře objevuje glykosurie, aniž by byly vyjádřeny jakékoli klinické příznaky diabetu. Nález glykosurie byl zpravidla přechodný, s úplným vymizením v období po porodu [4]. Klinický význam takto zachycené glykosurie v těhotenství nebyl dlouho jasný. Rovněž nebylo zřejmé, zda má význam glykosurii cíleně vyhledávat screeningovým vyšetřením. Důvodem, proč nakonec převážil názor, že se nejedná pouze o náhodný a klinicky nevýznamný nález, bylo spojení glykosurie s vyšším výskytem porodnických komplikací a také zvýšeným rizikem rozvoje diabetu v období po porodu.

Z pohledu těhotenských komplikací byl u žen s glykosurií v těhotenství prokázán vyšší výskyt spontánních potratů a vyšší perinatální mortalita novorozenců. Je vhodné poznamenat, že zvýšení obou těchto parametrů nebylo tak významné, jako u diabetických žen (diagnóza

diabetu stanovena před těhotenstvím) [6]. U žen s glykosurií v těhotenství byla navíc častěji popisována makrosomie [13]. Kromě rozdílné porodní hmotnosti byly také nalezeny další histologické a klinické znaky embryopatie, které byly v té době popisovány především u novorozenců žen, kterým byl diabetes diagnostikován před těhotenstvím. Patřily mezi ně kardiomegalie, akcentovaná erytropoéza či hyperplazie nadledvin [14]. Hlavní důvody pro tyto změny byly hledány v oblasti endokrinologické a byly mylně připisovány poruchám funkce hypofýzy.

Těhotenství tak začalo být považováno za jakýsi prediabetický stav, který ne zcela jasným mechanismem ovlivňuje vývoj plodu a předchází vlastní klinické manifestaci diabetu těhotných žen v období po porodu. Tuto hypotézu dále podpořil retrospektivní nález zvýšené perinatální úmrtnosti v případě, že byl ženám diagnostikován diabetes mellitus až v delším časovém období po porodu (8,3 %), ve srovnání s ženami, u kterých se diabetes po porodu neobjevil (2 %) [14]. Navíc se ukázalo, že je perinatální úmrtnost tím vyšší, čím dříve po porodu dojde u matky k manifestaci diabetu [15].

1.3. Vývoj screeningu gestačního diabetu v těhotenství

Nepříznivá porodnická anamnéza u žen, kterým se klinické známky diabetu objevily až s odstupem měsíců nebo let od porodu, vedla k vytvoření screeningových vyšetření k vyloučení diabetu v probíhajícím těhotenství. Koncem 50. let se tak v literatuře objevují klasifikace poruchy glukózové tolerance v těhotenství. Jako screeningový test byl ve většině případů využit glukózový toleranční test (GTT) s podáním 100 g glukózy a kontrolou glykémie před a 2 hodiny po podání glukózy. Poprvé se také setkáváme s pojmem gestační diabetes, který vyjadřoval nejvyšší stupeň poruchy glukózové tolerance v těhotenství a byl definován hodnotou glykémie vyšší než 170 mg/dl (což přibližně odpovídá 9,4 mmol/l) po 2 hodinách GTT [16]. Pravděpodobně největší dopad měla v tomto ohledu práce O'Sullivanova, který na souboru přibližně 20 tisíc těhotenství popsal výskyt asymptomatického diabetu v těhotenství (gestační diabetes) a jeho vztah ke klinické manifestaci diabetu v pozdějším období života žen [17]. Tato práce se stala podkladem pro screeningový program, podle kterého byl především v USA diagnostikován gestační diabetes v následujících 30 letech. Diagnostické hodnoty pozitivního screeningového testu, které z této práce vycházely, byly stanoveny arbitrárně na

úrovni 2 směrodatných odchylek od průměrné hodnoty glykémie v původním diagnostickém souboru a vyjadřovaly rizika rozvoje diabetu žen po proběhlém těhotenství [18]. Je nutné si uvědomit, že tento screening nikterak nezohledňoval rizika těhotenských či porodnických komplikací daného těhotenství. Alternativou k tomuto diagnostickému postupu bylo využití standardních laboratorních kritérií pro diabetes mellitus u netěhotných osob a jejich uplatnění při těhotenském screeningu. Nevýhodou tohoto postupu bylo ignorování specifických změn v glukózovém metabolismu, které v těhotenství probíhají. Následujících několik dekád je tak ve znamení hledání optimálního diagnostického nástroje, a především celosvětově přijatelných diagnostických kritérií, které by zohledňovaly vztah gestačního diabetu k těhotenským a porodnickým komplikacím. I přesto, že proběhlo několik mezinárodních konferencí, které měly tyto problémy vyřešit, nepodařilo se do dnešní doby nalézt celosvětový konsensus v diagnostickém postupu. Jedním z důvodů byl i nedostatek klinických a experimentálních dat, která by jasně prokázala potenciální profit z celoplošného screeningu a následné léčby GDM u těhotných žen.

To, že diabetes v těhotenství zvyšuje rizika těhotenských a porodnických komplikací bylo zřejmé, nicméně nebylo jasné, zda i glykémie, která nedosahuje hodnot typických pro diabetes může tato rizika zvýšit. Na tuto otázku se pokusila odpovědět studie The Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome (HAPO). Do studie bylo zařazeno více jak 23 tisíc těhotných žen v devíti zemích světa. Hlavním cílem studie bylo posoudit, jaký je vztah mírné hyperglykémie (nižší, než je tomu běžné u diabetických žen) a předem stanovených těhotenských komplikací (porodní hmotnost nad 90. percentil pro gestační věk, primární císařský řez, novorozenecká hypoglykémie a koncentrace C-peptidu v pupečnickové krvi nad 90. percentil). U všech zařazených žen byl mezi 27. a 32. týdnem těhotenství proveden orální glukózový toleranční test (oGTT), při kterém bylo podáno 75g glukózy. Výsledky testu byly zaslepeny a těhotné ženy pokračovaly v prenatální péči dle zvyklostí jednotlivých pracovišť. Po porodu došlo k vyhodnocení výsledku oGTT a byl posouzen vztah k definovaným cílům studie. Výsledky prokázaly, že je i mírná hyperglykémie matky (nedosahující hodnot diagnostických pro diabetes mellitus) spojena se zvýšenou porodní hmotností plodů a zvýšenou koncentrací C-peptidu v pupečnickové krvi. Kromě těchto silných závislostí byla dále prokázána významná, ale slabší souvislost s výskytem novorozenecké hypoglykémie a žloutenky, primárním porodem císařským řezem, předčasným porodem, preeklampsií,

dystokií ramének, porodním poraněním plodu a nutností intenzivní péče o novorozence [19]. Prakticky nejdůležitějším poznatkem ze studie HAPO však bylo poznání, že vztah sledovaných komplikací a glykemií při oGTT je spojitý a není možné identifikovat hodnoty glykémie během oGTT, od kterých by výskyt komplikací výrazněji narůstal. To vedlo k formulaci následujících závěrů [20]:

- 1) vztah mezi hladinou glukózy u matky a vývojem plodu se zdá být základním biologickým jevem, a nikoli jasně ohraničeným patologickým stavem
- 2) diagnostická kritéria pro gestační diabetes nebude možné jednoduše určit z asociace mateřských glykemií a sledovaných těhotenských komplikací

Výsledky studie HAPO iniciovaly další mezinárodní setkání s cílem sjednotit screening a formulovat všeobecně přijatelná diagnostická kritéria GDM. Vzhledem k tomu, že nebylo možné ze studie HAPO určit hodnoty glykémie, při které by se riziko těhotenských komplikací výrazněji měnilo, bylo nutné přistoupit k arbitrárnímu určení diagnostických hodnot. Nakonec byly doporučeny hodnoty glykémie, které v 0., 60. a 120. minutě oGTT testu odpovídaly poměru šancí na výskyt komplikací (odds ratio) 1,75. Tyto hodnoty uvádí tabulka 1.

Tabulka 1: Diagnostické hodnoty GDM v průběhu oGTT mezi 24. a 28. týdnem těhotenství podle doporučení IADPSG [21].

| Fáze testu | Hodnota glykémie |
|-------------------|-------------------------|
| 0. minuta | FPG \geq 5,1mmol/l |
| 60. minuta | PPG \geq 10,0mmol/l |
| 120. minuta | PPG \geq 8,5mmol/l |

FPG = fasting plasma glucose (lačná glykémie); PPG = postprandial plasma glucose (glykémie po podání glukózy)

Doporučeným testem pro screening GDM byl podobně jako v HAPO studii oGTT s podáním 75 g glukózy. Vyjma cíleného screeningu GDM ve druhé polovině těhotenství kladla doporučení důraz na vyšetření lačné glykémie, co nejdříve po zjištění těhotenství. Smyslem tohoto doporučení bylo odhalení nepoznaného diabetu v počátku těhotenství a zahájení jeho

léčby s cílem minimalizovat nepříznivý vliv hyperglykémie v období organogeneze plodu. Pro stanovení diagnózy diabetu v úvodu těhotenství byla doporučena obecná kritéria, využívaná v období mimo těhotenství (lačná glykémie $\geq 7,0$ mmol/l, náhodná glykémie $\geq 11,1$ mmol/l). Pokud nebyl tímto způsobem v rané fázi těhotenství prokázán zjevný diabetes mellitus, ale přesto byly hodnoty lačné glykémie $\geq 5,1$ mmol/l (dle výše uvedených doporučení pro pozdní fázi těhotenství), bylo doporučeno tuto situaci uzavřít jako časný GDM [21]. Využití stejných diagnostických hodnot lačné glykémie v úvodu těhotenství a v jeho druhé polovině se stalo značně kontroverzní záležitostí a v současné době není celosvětově uplatňováno. Je tomu především proto, že na rozdíl od jasně prokázaného rizika těhotenských komplikací při zvýšené lačné glykémii ve druhé polovině těhotenství nebyla tato souvislost v rané fázi těhotenství doposud přesvědčivě doložena. Navíc je patrné, že stanovení časně diagnózy GDM využitím lačné glykémie v I. trimestru jen omezeně koresponduje s pozitivním diagnostickým výsledkem oGTT, který je následně proveden ve druhé polovině těhotenství [22,23].

2. Současný pohled na gestační diabetes a jeho patofyziologii

2.1. Klinické aspekty gestačního diabetu

Gestační diabetes mellitus je v současné době definován jako porucha glukózové tolerance, která je poprvé odhalena během těhotenství (zpravidla ve 2. nebo 3. trimestru). Je charakterizován hyperglykemií, která nedosahuje diagnostických hodnot pro diabetes mellitus u netěhotných osob [24]. Tato hyperglykémie je spojena se zvýšeným rizikem těhotenských komplikací pro matku a plod. Současně zvyšuje riziko metabolických poruch (především DM 2. typu, obezity, arteriální hypertenze) a kardiovaskulárních komplikací v pozdější období života matky i dítěte [19,25,26]. V České republice probíhá screening GDM u všech těhotných žen v souladu s IADPSG doporučeními, která byla blíže rozebrána v předchozí kapitole. Diagnóza GDM tak může být stanovena nejenom během oGTT mezi 24. a 28. týdnem těhotenství (*tab. 1*), ale také opakovaným zachycením lačné glykémie $\geq 5,1$ mmol/l v časně fázi těhotenství (1. trimestr) [27]. Bez ohledu na způsob stanovení diagnózy je u všech žen s prokázaným GDM zahájena nutriční intervence s redukcí denního příjmu sacharidů. Farmakologická léčba GDM je zahájena v případě, že úpravou režimových a dietních opatření

není dosaženo cílových hodnot glykémie (tab. 2). Po porodu zpravidla dochází k normalizaci glykémii. S ohledem na zvýšené riziko manifestace zjevného diabetu v pozdějším období života matky je však doporučeno provedení oGTT za 3-6 měsíců po porodu [27].

Tabulka 2. Cílové hodnoty glykémie při léčbě GDM [27].

| | |
|----------------------------|-------------|
| Glykémie nalačno | <5,3 mmol/l |
| Glykémie 1 hodinu po jídle | <7,8 mmol/l |
| Glykémie 2 hodiny po jídle | <6,7 mmol/l |

2.2. Patofyziologie gestačního diabetu

Přesné mechanismy vedoucí k poruše glukóзовé tolerance v těhotenství zcela objasněny nejsou. Předpokládá se však významný podíl inzulinové rezistence a neschopnosti β -buněk na tuto situaci reagovat dostatečným zvýšením sekrece inzulinu. Tyto mechanismy jsou dobře známé v patofyziologii diabetu 2. typu. V těhotenství dochází v mateřském organismu k celé řadě adaptačních metabolických změn, které umožňují správný růst a vývoj plodu. Na konci 1. trimestru postupně narůstá inzulinová rezistence svalové a tukové tkáně těhotné ženy, která dosahuje svého vrcholu v průběhu třetího trimestru [28]. Vystupňovanou lipolytickou aktivitou dochází ke snížení objemu tukové tkáně a zvyšuje se nabídka volných mastných kyselin. Ty se pak stávají dominantním zdrojem energie pro těhotnou ženu. Rostoucí inzulinová rezistence zvyšuje nabídku glukózy pro vyvíjející se plod. Tím jsou kryty zvýšené energetické nároky růstu v druhé polovině těhotenství [29,30]. Většina těchto procesů je řízena aktivitou hormonů. Stěžejní roli přebírají v těhotenství hormony produkované placentou. Současně dochází ke změnám v sekreci estrogenů, progesteronu, kortizolu, prolaktinu a růstového hormonu [29]. S narůstajícím vědeckým poznáním je patrné, že z pohledu patofyziologie nepředstavují ženy s GDM homogenní skupinu a lze je rozdělit do několika různých fenotypů. Powe et al. popsali celkem tři různé fenotypy podle různého uplatnění inzulinové rezistence a/nebo selhání sekrece inzulinu: 1) skupina GDM s dominantní poruchou sekrece inzulinu; 2) skupina GDM s dominantní poruchou inzulinové citlivosti

a 3) skupina GDM s kombinací obou zmíněných poruch [31]. Studium změn, které stojí za zmíněnou inzulinovou rezistencí a poruchou sekreční funkce β -buněk v těhotenství tak může přispět k hlubšímu pochopení možných fenotypů gestačního diabetu. Časná diagnostika těchto změn a cílená léčba může dále ovlivnit rizika, která jsou s GDM spojena.

Budeme-li vycházet z poznatků o patofyziologii diabetu 2. typu, pak je vhodné zaměřit pozornost na možnou endokrinní dysfunkci tukové a střevní tkáně v těhotenství.

3. Inkretinové hormony a diabetes mellitus

V polovině 80. let byla v experimentu prokázána různá míra stimulace sekrece inzulínu glukózou s ohledem na způsob jejího podání zdravému člověku. Pokud je totiž glukóza podána perorálně, vyvolá výrazně vyšší sekreční odpověď β -buněk pankreatu, než je tomu po podání glukózy intravenózní cestou. Tento fenomén byl nazván inkretinovým efektem (obr. 2) [32].

Obrázek 2. Inkretinový efekt.

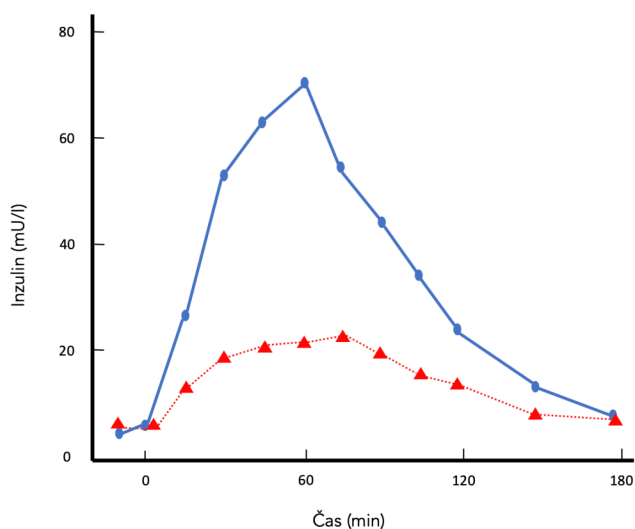


Schéma sekrece inzulínu v reakci na perorální (modrá) a intravenózní (červená) podání glukózy. Upraveno podle Nauck et al. [33].

Fyziologický podklad inkretinového efektu můžeme hledat v uvolnění biologicky aktivních peptidů, tzv. inkretinů. Tyto hormony jsou vytvářeny specifickými enteroendokrinními buňkami, které jsou ve střevní sliznici rozptýleny mezi enterocyty. Do skupiny inkretinových hormonů řadíme v dnešní době především GLP-1 (glucagon-like peptide-1), který je uvolňován z L-buněk v distální části tenkého střeva a tračníku a GIP (glucose-dependent insulinotropic polypeptide), produkovaný K-buňkami duodena a proximálního jejunu. Stimulem pro sekreci zmíněných hormonů je absorpce živin během fyziologických trávicích procesů. V situaci na lačno je koncentrace obou inkretinových hormonů nízká (10-12 pmol/l). Plazmatická koncentrace pak dramaticky stoupá několik minut po příjmu živin. Hlavními

složkami stravy s prokázaným stimulačním vlivem na uvolnění inkretinových hormonů jsou glukóza, sacharóza, triglyceridy a některé aminokyseliny. Vrcholu dosahuje plazmatická koncentrace přibližně za jednu hodinu od příjmu stravy. Aktivní forma GIP i GLP-1 je v organismu velmi rychle degradována pomocí DPP-4 (dipeptidylpeptidáza-4) na inaktivní formu. Inkretinové hormony se váží na specifické receptory v cílových tkáních organismu. Obecně lze za výsledek jejich pleiotropního působení v organismu považovat normalizace glykémie v období po jídle. Jedním z hlavních mechanismů, kterým je tohoto cíle dosaženo, je stimulace sekrece inzulinu z β -buněk a suprese sekrece glukagonu z α -buněk Langerhansových ostrůvků pankreatu. Podíl inkretinových hormonů na sekreci inzulinu po perorálním podání glukózy se odhaduje až na 75 % (v závislosti na množství podané glukózy). Vliv inkretinových hormonů na sekreci inzulinu a glukagonu se uplatňuje vždy, když hladina glykémie přesáhne hodnotu přibližně 3,7 mmol/l. Samotná koncentrace glukózy pak ovlivňuje sekreci inzulinu podstatně méně. Inzulinotropní účinek inkretinů je přítomný pouze za současné hyperglykémie, nemůže proto vyvolat epizodu hypoglykémie. Pokud tedy srovnáme všechny signály, vycházející z oblasti střeva a ovlivňující sekreci inzulinu (glukóza, inkretinové hormony, autonomní nervový systém), mají za fyziologických okolností nejvýznamnější podíl inkretinové hormony [33].

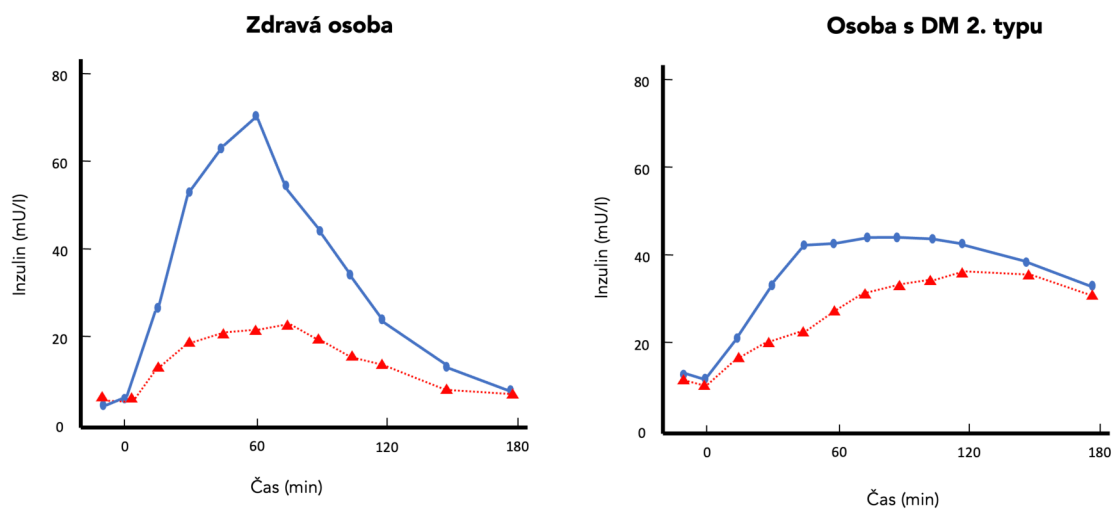
U osob s diabetem 2. typu (DM 2. typu) je inkretinový efekt ve srovnání se zdravou populací výrazně oslaben nebo dokonce zcela chybí (obr. 3) [32]. Předpokládá se, že hlavním důvodem je snížená reakce na GIP, který má za fyziologických okolností rozhodující podíl na inkretinovém efektu [34]. Relativně zachovalá účinnost GLP-1 u osob s DM 2. typu tak není dostačující k udržení tohoto efektu [35].

Studie sledující sekreci obou inkretinových hormonů u osob s DM 2. typu přináší ambivalentní výsledky. Rané studie naznačovaly sníženou sekreční odpověď GLP-1, zatímco sekrece GIP u osob s diabetem se naopak zdála být zvýšená [36,37]. Po průkazu sníženého inkretinového efektu u osob s diabetem se začalo spekulovat, zda může být tento jev etiologickým faktorem pro rozvoj samotné nemoci nebo je naopak jejím důsledkem. Z výsledků následných studií se zdá, že vymizení inkretinového efektu nastává až po stanovení diagnózy diabetu. Přestože se tedy inkretinový systém s největší pravděpodobností nepodílí na přechodu z fyziologického stavu do klinicky manifestního diabetu, může v jeho průběhu přispívat k progresi onemocnění. Ztráta hlavního mechanismu stimulujícího sekreci inzulinu se

totiž podílí na zhoršené metabolické kompenzaci, což druhotně ovlivní funkční kapacitu β -buněk, a tím dále ovlivní inkretinový efekt [33].

V současné době je inkretinový systém využíván k efektivní léčbě DM 2. typu. Je to především díky zachované schopnosti GLP-1 stimulovat sekreci inzulínu a tlumit sekreci glukagonu u osob s DM 2. typu. Farmakologická stimulace receptorů pro GLP-1 snižuje glykémii, snižuje chuť k jídlu, zpomaluje motilitu žaludku a podílí se na regulaci příjmu stravy. Tyto aspekty pak přispívají ke snížení hmotnosti léčených osob. Současně se GIP a GLP-1 podílí na regulaci procesů v tukové tkáni, kostech a kardiovaskulárním systému. Agonisté receptorů pro GLP-1 (GLP-1RA) dokázali snížit výskyt závažných kardiovaskulárních příhod, a tím zlepšit prognózu nemocných [38]. Společně s efektem na tělesnou hmotnost a regulaci glykémie se tak stali důležitou součástí léčby osob s DM 2. typu.

Obrázek 3. Inkretinový efekt u osob s DM 2. typu.



Schématické srovnání inkretinového efektu u zdravých osob (vlevo) a osob s diabetem 2. typu (vpravo). Sekrece inzulínu po perorálním (modrá) a intravenózním (červená) podání glukózy. Upraveno podle Nauck et al. [32].

4. Hormony tukové tkáně a diabetes mellitus

Pohled na význam tukové tkáně v organismu se v průběhu 20. století značně změnil. Původně se tukové tkáni přisuzovala spíše pasivní role. Byla chápána jako prostá zásobárna energie, poskytující orgánům mechanickou ochranu a uplatňující se v termoregulačních procesech lidského těla. Až následně byla objevena její aktivní endokrinní činnost, spočívající ve schopnosti buněk tukové tkáně (adipocyty, preadipocyty, imunokompetentní buňky, fibroblasty) uvolňovat celou řadu biologicky aktivních látek (peptidů). Tyto látky souhrnně nazýváme adipokiny. V současnosti není znám jejich přesný počet, pravděpodobně však přesahuje 600 [39]. Účinky adipokinů můžeme pozorovat přímo v tukové tkáni (autokrinní a parakrinní působení), kde významným způsobem ovlivňují metabolismus a funkci adipocytů a dalších buněk tukové tkáně. Na systémové úrovni (endokrinní působení) pak zasahují do řízení vzdálených orgánů a soustav. Zásadní roli hrají v řízení intermediárního metabolismu. Jsou regulátorem inzulinové sekrece a ovlivňují senzitivitu cílových tkání k účinku inzulinu. Uplatňují se také při modulaci systémového zánětu, podílí se na regulaci funkce endotelu, krevního tlaku a hemostázy [40,41].

V současné době je pozornost upřena především na studium změn v sekreci adipokinů v patofyziologii obezity a přidružených metabolických a kardiovaskulárních onemocnění. Dysfunkce tukové tkáně je spojena s nárůstem inzulinové rezistence, která je jednou z hlavních etiologických příčin porušené glukózové tolerance a přispívá tak ke vzniku a progresi DM 2. typu. Dále budou podrobněji popsány adipokiny zkoumané v experimentální části disertační práce.

4.1. Adiponektin

Představuje endokrinní faktor dominantně syntetizovaný tukovou tkání. Jeho exprese však byla prokázána také v buňkách mimo tukovou tkáň (hepatocyty, osteoblasty, epitelální buňky, placentární buňky). Z pohledu metabolického syndromu a poruchy metabolismu glukózy představuje adiponektin protektivní faktor. Příznivý efekt lze hledat hned v několika oblastech. Vazbou na receptor je spuštěna intracelulární kaskáda dějů vedoucí v konečném důsledku ke zvýšení citlivosti cílových tkání k účinkům inzulinu (snížení inzulinové rezistence). Mimo to zmírňuje adiponektin aktivitu subklinického systémového zánětu a míru oxidačního

stresu. Je spojován s ochranným efektem na β -buňky pankreatu. Zvyšuje utilizaci glukózy a oxidaci mastných kyselin v kosterních svalech a současně tlumí jaterní glukoneogenezi [42]. V souladu s výše popsány efekty jsou ve studiích vyšší hladiny adiponektinu spojeny s nižším rizikem rozvoje DM 2. typu, a naopak jeho snížená hladina představuje nezávislý prediktor rozvoje diabetu [43].

4.2. A-FABP

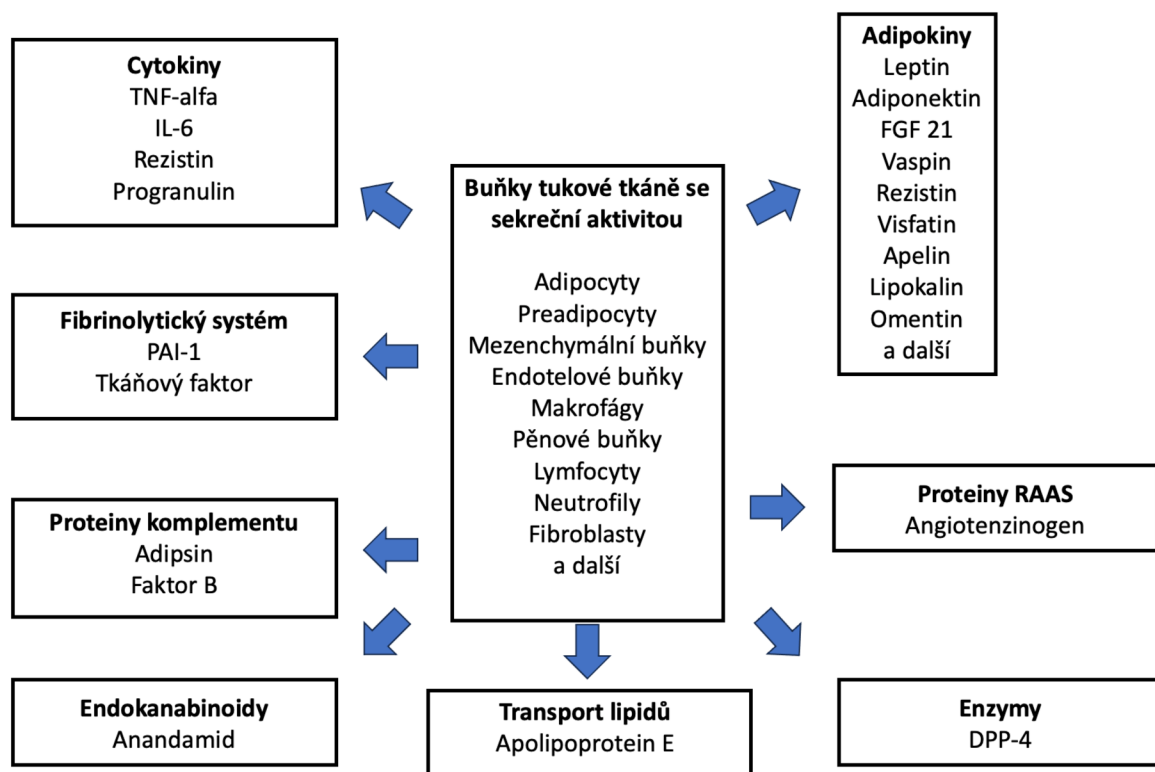
Adipocytární protein vázající mastné kyseliny (A-FABP) hraje důležitou roli v intracelulární vazbě, transportu a metabolismu mastných kyselin v mitochondriích a peroxizomech uvnitř buněk. Podobně jako adiponektin je i A-FABP exprimován především v adipocytech a makrofázích tukové tkáně. A-FABP hraje rovněž důležitou roli v rozvoji inzulinové rezistence a aterosklerózy v souvislosti s metabolicky podmíněným chronickým zánětem [44]. Je tomu především v situaci nadměrného příjmu kalorií. Za fyziologických okolností může být přítomnost A-FABP v buňkách naopak prospěšná, a to díky regulaci ukládání energie v adipocytech, příznivému vlivu na imunitní odpověď makrofágů a transportu mastných kyselin v endoteliálních buňkách. V situaci nedostatku energie a vystupňované lipolýzy reguluje A-FABP jaterní glukoneogenezi a přispívá tak k udržení glukózové homeostázy [44]. Zvýšené sérové hladiny A-FABP nacházíme u osob s DM 2. typu, obezitou, arteriální hypertenzí, aterosklerózou a srdečním selháním [45–48].

4.3. FGF-19

Fibroblastové růstové faktory (FGF) představují skupinu biologicky aktivních proteinů s prokázaným autokrinním, parakrinním a endokrinním působením, které je zprostředkováno vazbou na specifické FGF receptory v buňkách cílových tkání. Funkce FGF-19 byla dobře popsána v souvislosti s regulací sekrece žluče a žlučových kyselin. K expresi FGF-19 v enterocytech dochází v důsledku procesů spojených s příjmem stravy. Po svém uvolnění a vazbě na příslušný receptor (FGFR4) snižuje v játrech FGF-19 syntézu žlučových kyselin a ovlivňuje motilitu a plnění žlučníku [49]. Svým způsobem tak FGF-19 brání enterohepatálnímu poškození žlučovými kyselinami, které jsou známé svým detergentním působením [50]. Kromě toho byla popsána souvislost tohoto adipokinu s metabolickými onemocněními. U osob s DM 2. typu, obezitou a nealkoholickou steatohepatitidou (NASH)

byly opakovaně prokázány snížené plazmatické hladiny FGF-19. Z pohledu diabetu se však nejedná pouze o marker metabolického postižení. Na úrovni jater vstupuje FGF-19 do regulace metabolismu glukózy tím, že vazbou na komplex receptorů FGFR4/ β -klotho snižuje jaterní glukoneogenezi, a naopak stimuluje syntézu glykogenu [51]. Z hlediska možného terapeutického využití je zajímavé, že zvýšená exprese nebo farmakologické podávání FGF-19 vede v experimentálních zvířecích modelech diabetických obézních myši ke zlepšení metabolického profilu [52].

Obrázek 4. Biologicky aktivní látky produkované tukovou tkání.



TNF-alfa = tumor necrosis factor alfa, IL-6 = interleukin 6, PAI-1 = plasminogen activator inhibitor-1, DPP-4 = dipeptidyl peptidase 4, FGF 21 = fibroblast growth factor 21. Upraveno podle Fasshauer et al. [41].

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Experimentální část disertační práce zahrnuje tři oblasti výzkumu. Nejprve bylo cílem v rámci retrospektivní observace zjistit, zda využití diagnostických kritérií gestačního diabetu podle IADSPG doporučení povede k určení odlišných fenotypů těhotných žen s GDM. Následně byla pozornost upřena na časnou fázi těhotenství (I. trimestr). Ve studii případů a kontrol jsme posuzovali, zda lze nalézt abnormální sekreci inkretinových hormonů u žen se zvýšenou lačnou glykemií v této fázi těhotenství. Posledním cílem experimentální práce bylo sledovat změny v produkci vybraných adipokinů u žen s časnou diagnózou gestačního diabetu během celého těhotenství.

5. Využití diagnostických kritérií GDM podle International Association of the Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG) k posouzení rozdílu v antropometrických parametrech těhotných žen a výskytu těhotenských komplikací.

Na základě doporučení pro diagnostiku a klasifikaci hyperglykémie v těhotenství, kterou vydala v roce 2010 skupina IADPSG, se screening GDM provádí mezi 24. a 28. týdnem těhotenství. Ke screeningu je doporučeno provést oGTT, při kterém je podáno 75g glukózy. Během testu se hodnotí glykémie před podáním glukózy (0. minuta) a následně v 60. a 120. minutě testu [21]. Mimo provedení oGTT ve výše zmíněném období těhotenství je ovšem dále doporučeno vyšetřit lačnou glykémii co nejdříve po otěhotnění, tedy již v prvním trimestru těhotenství. Smyslem tohoto vyšetření je odhalení zjevného, dosud nepoznaného diabetu a jeho časně léčby. V této situaci však můžeme rovněž odhalit těhotné ženy s mírnou lačnou hyperglykemií, odpovídající diagnostické hodnotě lačné glykémie oGTT ve 2. polovině těhotenství. I tyto ženy je pak doporučeno sledovat obdobně jako po stanovení GDM v pozdější fázi těhotenství [21]. Naše studie měla za cíl posoudit, zda lze využitím rozdílného způsobu stanovení diagnózy GDM identifikovat ženy s odlišným antropometrickým fenotypem v době diagnózy GDM. Druhým cílem bylo posoudit, zda je způsob stanovení

diagnózy GDM u těchto žen spojen s rozdílným průběhem těhotenství a výskytem novorozeneckých komplikací.

5.1. Metodika

Design studie, zařazovací a vylučovací kritéria

V souladu se zásadami Helsinské deklarace, revidované v roce 2008, byla uspořádána retrospektivní observační studie. Ze zdravotnické databáze Fakultní nemocnice v Olomouci byly vyhledány informace o ženách, které byly v těhotenství sledovány pro poruchu metabolismu sacharidů. Do studie byly zařazeny pouze ženy, kterým byl GDM diagnostikován v souladu s doporučením IADPSG a u nichž bylo možné provést rozdělení do 3 skupin podle způsobu stanovení diagnózy GDM (tab. 3).

Tabulka 3. Rozdělení žen do skupin podle způsobu stanovení diagnózy gestačního diabetu.

| Skupina | Týden těhotenství | Způsob vyšetření | Hodnota glykémie |
|-------------------|-------------------|--------------------|-----------------------|
| Časná FPG | 1. - 13. týden | Lačná glykémie | FPG \geq 5,1mmol/l |
| Pozdní FPG | 24. – 28. týden | oGTT – 0. minuta | FPG \geq 5,1mmol/l |
| Pozdní PPG | 24. – 28. týden | oGTT – 60. minuta | PPG \geq 10,0mmol/l |
| | | oGTT – 120. minuta | PPG \geq 8,5mmol/l |

FPG = fasting plasma glucose (lačná glykémie); PPG = postprandial plasma glucose (glykémie po podání glukózy); oGTT = orální glukózový toleranční test

Z další analýzy byly naopak vyřazeny ženy s prokázaným diabetem před těhotenstvím (DM 1. typu, DM 2. typu, MODY) a rovněž ženy, které splňovaly kritéria zjevného diabetu v probíhajícím těhotenství (lačná glykémie \geq 7,0 mmol/l a/nebo glykémie po zátěži glukózou \geq 11,1 mmol/l).

Všechny ženy byly při první kontrole zaškoleny v základních dietních a režimových opatřeních. Léčba inzulínem byla zahájena pouze při splnění alespoň jednoho z následujících kritérií: 1) lačná glykémie $>$ 5,3 mmol/l; 2) glykémie 1 hodinu po jídle opakovaně $>$ 7,6 mmol/l

nebo glykémie 2 hodiny po jídle opakovaně $> 6,6$ mmol/l. Žádná ze zařazených žen nebyla léčena pomocí perorálních antidiabetik. Ze záznamů zdravotnické dokumentace byly získány anamnestické údaje (věk, pořadí těhotenství) a vyhodnoceny rizikové faktory rozvoje diabetu (DM v rodinné anamnéze, GDM v předchozím těhotenství, porodní hmotnost plodu >4000 g). Antropometrické údaje z počátku těhotenství (hmotnost, výška, BMI) byly vyhledány v dokumentaci z první ambulantní kontroly v těhotenství. Informace o hmotnostním přírůstku a způsobu léčby GDM (dieta, léčba inzulinem) byly získány z následných ambulantních kontrol v průběhu těhotenství. Údaje o porodní hmotnosti, způsobu porodu (přirozený porod, císařský řez), novorozeneckých komplikacích (novorozenecká hypoglykémie, novorozenecká žloutenka) byly získány po porodu ze zdravotnické dokumentace gynekologické kliniky.

Laboratorní metody

Biochemické parametry (glykémie, glykovaný hemoglobin, fruktosamin) byly analyzovány systémem Cobas 8000 (Roche, Mannheim, Germany). Vzorky k této analýze byly odebrány ráno po nejméně dvanáctihodinovém lačnění během první ambulantní kontroly v těhotenství.

Statistické metody

Číselné hodnoty spojitých veličin jsou vyjádřeny formou průměru, mediánu a směrodatné odchylky. Pro testování rozdílu ve spojitých veličinách mezi skupinami byl použit Kruskal Wallisův test. Pro testování rozdílu v diskrétních veličinách mezi skupinami byl použit chi kvadrát test v kontingenční tabulce. Spearmanův koeficient (ρ) byl použit pro vyjádření míry korelace. Všechny hypotézy byly testovány na hladině statistické významnosti $p < 0,05$. Pro vyhodnocení dat byl použit software MATLAB Version 7.5.0.342 (R2007b).

5.2. Výsledky

Rozdělení dle způsobu diagnózy GDM

Diagnóza gestačního diabetu byla v našem souboru dominantně stanovena pomocí zvýšené lačné glykémie (skupina časná FPG a pozdní FPG) a to celkem v 73,9 % případů. Současně byla více jak čtvrtina sledovaných žen (26,1 %) diagnostikována už v časně fázi

těhotenství. Rozdělení studovaného souboru do jednotlivých skupin podle stanovení diagnózy GDM je uvedeno na obrázku 5.

Základní charakteristika souboru

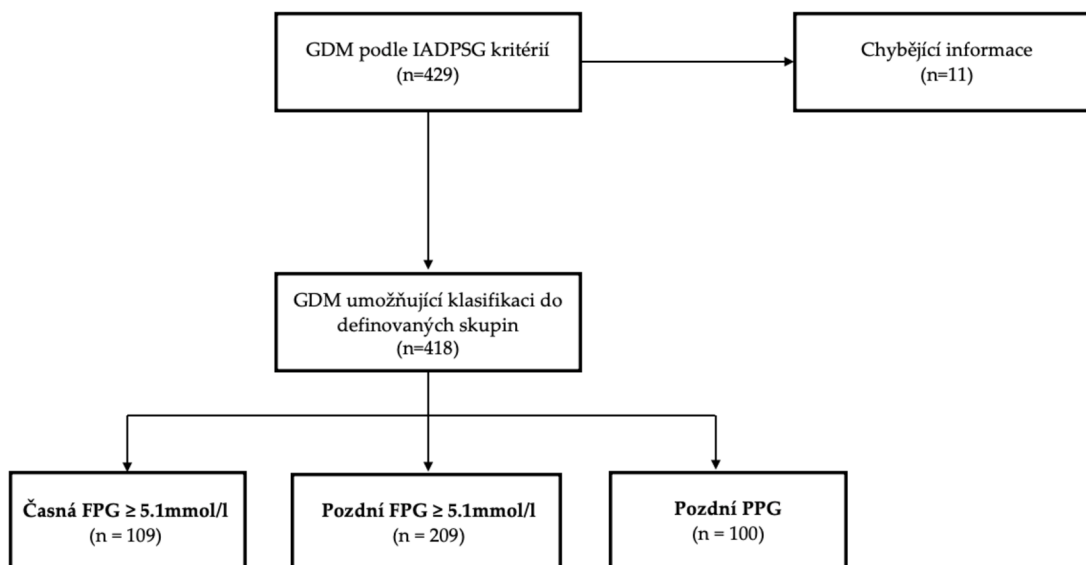
V první části statistické analýzy jsme se zaměřili na porovnání všech 3 studovaných skupin na počátku těhotenství. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 4. Těhotné ženy se ve sledovaných skupinách nelišily věkem, pořadím těhotenství, přítomností rizikových faktorů pro rozvoj diabetu ani v parametrech metabolické kompenzace (HbA1c) v době diagnózy GDM. Byl však nalezen významný rozdíl v hmotnosti (resp. BMI), se kterou ženy vstupovaly do těhotenství. BMI žen na počátku těhotenství pak ve všech skupinách pozitivně korelovalo s hodnotou HbA1c v době stanovení diagnózy GDM ($p = 0,36$, $p < 0,001$; $p = 0,23$, $p < 0,001$; $p = 0,30$, $p < 0,001$).

Tabulka 4. Základní charakteristika souboru. Antropometrická a laboratorní analýza v době stanovení diagnózy.

| | Celý soubor | Časná FPG | Pozdní FPG | Pozdní PPG | p value |
|--------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|----------------|
| Věk (roky) | 31.6 (32) ± 5.32 | 31.1 (31) ± 5.1 | 31.8 (32) ± 5.5 | 31.4 (31) ± 4.9 | ns |
| První těhotenství (%) | 42.4 (182/429) | 23.2 (41/177) | 26.2 (87/332) | 32 (49/151) | ns |
| DM v rodině (%) | 59.2 (180/304) | 36 (26/72) | 44 (66/150) | 40 (29/73) | ns |
| Hmotnost (kg) | 73.8 (70.8) ± 17.7 | 78.3 (76.0) ± 19.1 | 74.2 (72) ± 16.7 | 67.2 (62) ± 15.7 | <0,001 |
| BMI (kg/m ²) | 26.3 (25) ± 6.0 | 27.9 (27.2) ± 6.6 | 26.4 (25.0) ± 5.8 | 24.4 (22.8) ± 5,2 | <0,001 |
| HbA1c (mmol/mol) | 31.1 (31) ± 4.0 | 31.8 (31) ± 4.8 | 30.7 (31) ± 3.8 | 30.8 (31) ± 3.2 | ns |
| Fruktosamin (μmol/l) | 200.4 (199) ± 17.7 | 211.7 (211) ± 20.3 | 195.3 (194) ± 15.4 | 197.3 (197) ± 13.7 | <0,001 |

DM = diabetes mellitus; BMI = body mass index; HbA1c = glykovaný hemoglobin. Data jsou zobrazena jako průměr (medián) ± směrodatná odchylka; Počet pacientů ve skupinách: časná FPG (n = 109), pozdní FPG (n = 209), pozdní PPG (n = 100); pro testování rozdílů mezi skupinami (časná FPG vs. pozdní FPG vs. pozdní PPG) byl použit chi kvadrát test v kontingenční tabulce; $p < 0.05$ je považována za statisticky významnou.

Obrázek 5. Rozdělení studovaného souboru do skupin podle stanovení diagnózy GDM.



FPG = fasting plasma glucose (lačná glykémie); PPG = postprandial glucose (glykémie po zátěži stravou); GDM = gestační diabetes; IADPSG = International Association of the Diabetes and Pregnancy Study Groups

Průběh těhotenství

Celkový přírůstek tělesné hmotnosti žen s GDM se v jednotlivých skupinách významně lišil. U žen, kterým byl GDM stanoven na základě zvýšené lačné glykémie (časná FPG, pozdní FPG) byl navíc tento přírůstek negativně asociován s BMI na počátku těhotenství ($p = -0,25$, $p < 0,05$; $p = -0,21$, $p < 0,001$). Porodní hmotnost plodů se rovněž mezi skupinami významně lišila. Ve skupině časná FPG a pozdní FPG byla porodní hmotnost plodu pozitivně asociována s BMI na počátku těhotenství ($p = 0,27$, $p < 0,05$; $p = 0,23$, $p < 0,001$). Léčba GDM pomocí inzulinu byla častější u žen s vyšší lačnou glykémií (časná FPG a pozdní FPG) a měla vztah k tělesné hmotnosti ($p = 0,19$, $p < 0,001$), BMI ($p = 0,24$, $p < 0,001$), a také HbA1c v době stanovení diagnózy GDM ($p = 0,30$, $p < 0,001$). Rozdílný způsob stanovení diagnózy GDM pak v naší studii neměl vliv na výskyt sledovaných novorozeneckých komplikací. Jejich četnost byla v jednotlivých skupinách srovnatelná. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 5.

Tabulka 5. Vývoj tělesné hmotnosti, nutnost léčby a výskyt novorozeneckých komplikací.

| | Časná FPG | Pozdní FPG | Pozdní PPG | p value |
|--------------------------------|-------------------|---------------------|---------------------|----------------|
| Přírůstek hmotnosti (kg) | 9.32 (9.0) ± 6.76 | 12.73 (11.0) ± 8.47 | 11.05 (10.0) ± 4.66 | <0,05 |
| Léčba inzulinem (%) | 14.7 (16/109) | 7.2 (15/209) | 4 (4/100) | <0,05 |
| Porodní hmotnost (g) | 3372.2 ± 552.2 | 3415.6 ± 529.0 | 3199.0 ± 560.5 | <0,05 |
| Akutní císařský řez (%) | 12.5 (9/72) | 19.9 (30/151) | 18.9 (14/74) | ns |
| Novorozenecká hypoglykémie (%) | 14.1 (10/71) | 10 (15/150) | 7 (5/71) | ns |
| Novorozenecká žloutenka (%) | 43.1 (31/72) | 41.1 (62/151) | 47.3 (35/74) | ns |

Data jsou zobrazena jako průměr (medián) ± směrodatná odchylka nebo jako % (n/N). p <0.05 je považována za statisticky významnou.

5.3. Diskuse

I přes snahu o nalezení konsenzu zůstává způsob stanovení diagnózy GDM v časně fázi těhotenství značně kontroverzní téma. Stále se hledá vhodný screeningový test a v současné době nepanuje ani všeobecná shoda nad diagnostickými hodnotami glykémie, které by byly v časně fázi těhotenství jednoznačně spojeny se zvýšeným rizikem komplikací pro matku a plod v dalším průběhu těhotenství [53]. Z pohledu příčiny vzniku GDM je nyní zvažován výskyt tří různých fenotypů, s převládající poruchou rezistence k inzulinu, poruchou sekrece inzulinu nebo jejich kombinací. Tyto změny byly popsány jak v časně, tak i v pozdní fázi těhotenství. Důležitým poznatkem je, že ženy s dominantní poruchou citlivosti k inzulinu mají vyšší riziko těhotenských komplikací, spojených s gestačním diabetem [31,54]. Doposud však není zřejmé, zda se tento prokázaný patofyziologický rozdíl uplatňuje v odpovědi na standardní léčbu gestačního diabetu.

Jak je patrné z výsledků naší studie, klinické využití IADPSG kritérií pro diagnostiku GDM umožnilo identifikaci tří skupin těhotných žen, mezi kterými lze v době diagnózy GDM najít rozdíly v antropometrických parametrech, a které se mezi sebou liší v dalším průběhu

těhotenství. Předností naší studie je především zařazení těhotných žen s časnou diagnózou GDM, která byla stanovena při celoplošném screeningu v 1. trimestru těhotenství (časná FPG), a nezahrnuje tak pouze populaci těhotných žen se zvýšeným rizikem vzniku diabetu. V našem souboru bylo tímto způsobem diagnostikováno 25 % žen. Informace o prevalenci takto diagnostikované hyperglykémie v časně fázi těhotenství však celosvětově chybí, a to především z důvodu stále trvajících rozdílů v diagnostice gestačního diabetu. V populaci žen s nadváhou (BMI \geq 29), byl časný gestační diabetes využitím IADPSG kritérií prokázán u 22,9 % testovaných žen. Samotná zvýšená lačná glykémie FPG \geq 5,1 mmol/l pak v tomto souboru přispěla k diagnóze u 78,5 % případů [55].

Zvýšená lačná glykémie identifikovala v našem souboru ženy s vyšší tělesnou hmotností a BMI v úvodu těhotenství, a to v situaci, kdy byly do screeningu zařazeny těhotné ženy bez ohledu na přítomnost rizikových faktorů pro rozvoj GDM (tedy i nadváhy či obezity). Tento nález je v souladu s výsledky předchozích studií, kde byla diagnóza GDM zvýšenou lačnou glykemií spojena s průměrnou hodnotou BMI, odpovídající pásnu nadváhy [22,31,55]. Tělesná hmotnost a BMI před těhotenstvím se tedy zdá být silným prediktorem pro záchyt zvýšené lačné glykémie v časně fázi těhotenství. V kontrastu s vyšší hmotností na počátku těhotenství byl celkový přírůstek hmotnosti ve skupině žen s časnou diagnózou GDM v naší studii nejnižší. Důvodem pro toto zjištění může být delší doba, po kterou byla uplatňována restriktivní dietní opatření jako způsob léčby GDM. Je zde patrná i negativní korelace celkového váhového přírůstku s hodnotou BMI na počátku těhotenství. U žen s časnou diagnózou GDM však byla častěji zahajována farmakologická léčba pomocí inzulínu. To je v souladu s dříve publikovanými studiemi [56]. Vysvětlením může být nedostatečný vliv restrikce sacharidů v doporučené dietě na hodnoty lačných glykemií, které pak u této skupiny žen opakovaně přesahují cílové hodnoty a jsou tedy důvodem k zahájení farmakologické léčby.

Časně stanovení diagnózy GDM nebylo provázeno zvýšenou hodnotou glykovaného hemoglobinu (HbA1c). Průměrná hodnota HbA1c z doby stanovení diagnózy byla v našem souboru v pásnu typickém pro normální metabolismus glukózy. Není tedy pravděpodobné, že by využití IADPSG kritérií v časně fázi těhotenství odhalilo ženy s přítomnou poruchou metabolismu glukózy v období před těhotenstvím. Je však patrná pozitivní korelace hodnoty HbA1c s tělesnou hmotností a BMI na počátku těhotenství. Významný rozdíl byl naopak

nalezen v hodnotách fruktosaminu. Vysvětlení lze hledat v poklesu koncentrace albuminu ve druhé polovině těhotenství (tedy v době diagnózy GDM u skupiny pozdní FGM a pozdní PPG) [57]. Hodnota fruktosaminu je dominantně tvořena právě albuminem, a proto bude nalezený rozdíl v koncentraci fruktosaminu spíše spojen se změnami koncentrace albuminu během těhotenství než se skutečným nárůstem neenzymatické glykace v období 2–3 týdnů před provedeným odběrem. S ohledem na retrospektivní charakter naší studie však nebylo možné provést korekci fruktosaminu s koncentrací albuminu v době stanovení diagnózy GDM.

Výskyt vybraných perinatálních komplikací se v naší studii mezi skupinami statisticky nelišil. V kontrastu s tímto jsou výsledky meta-analýzy 13 studií, která poukázala na zvýšené relativní riziko perinatální úmrtnosti a novorozenecké hypoglykémie u žen s časně diagnostikovaným GDM oproti ženám, kterým byl GDM diagnostikován až ve druhé polovině těhotenství [56]. Vysvětlení rozdílu je možné hledat v celkové době, po kterou byly ženy s GDM sledovány a léčeny. Nelze však posoudit tíži GDM, celkovou dávku inzulínu ani vývoj glykemických profilů, protože tyto informace nebylo možné pro retrospektivní charakter naší studie získat. Časná diagnóza GDM byla rovněž spojena s vyšší porodní váhou plodu. Příčinou může být již dříve popsaná hyperinzulinémie plodu v důsledku inzulínové rezistence a častější léčba inzulínem [31,58]. Výskyt makrosomie nebyl v naší studii asociován s žádnou z definovaných skupin. Pozitivně však koreloval s hodnotou BMI, věkem a hodnotou HbA1c v době stanovení diagnózy GDM.

5.4. Závěr

Diagnóza GDM, stanovená v souladu s IADPSG doporučením zvýšenou lačnou glykemií (FPG \geq 5,1 mmol/l) v časně fázi těhotenství, je spojena s vyšší tělesnou hmotností a BMI žen na počátku těhotenství, dále je spojena se zvýšeným rizikem léčby inzulínem a vyšší porodní hmotností plodu. Vliv na výskyt novorozeneckých komplikací nebo zvýšené riziko makrosomie plodu nebyl v naší studii prokázán.

6. Sekrece inkretinových hormonů u žen se zvýšenou lačnou glykemií v časně fázi těhotenství.

Přestože není patofyziologie GDM dosud přesně objasněna, předpokládá se uplatnění nedostatečné sekrece inzulínu při zvýšené periferní inzulínové rezistenci, která se vyvíjí během těhotenství [31]. Inkretinové hormony, mezi které řadíme GLP-1 a GIP, by mohly být zapojeny do mechanismů kompenzujících zvýšení hladiny glukózy v krvi v důsledku inzulínové rezistence pozorované u těhotných žen [59]. Snížený inkretinový efekt může přispívat ke zhoršené kontrole glykémie po jídle, která je charakteristická pro některé fenotypy GDM. Kromě ovlivnění sekrece β -buněk upravují inkretinové hormony i sekreční aktivitu α -buněk Langerhansových ostrůvků pankreatu (GLP-1 tlumí a GIP zvyšuje sekreci glukagonu). Abnormality v uvolňování glukagonu byly popsány u osob s DM 2. typu, ale jeho role u GDM zatím známa není. Pouze několik studií zkoumalo koncentrace GLP-1, GIP a/nebo glukagonu u žen s GDM ve druhé polovině těhotenství, a to v situaci nalačno nebo po jídle. Výsledky studií však byly rozporuplné [60–62]. Důvodem nekonzistentních výsledků může být zastoupení těhotných žen s různým podílem inzulínové rezistence a/nebo sekrece v rámci patofyziologie GDM.

Hlavním cílem této studie bylo zjistit, zda existuje na počátku těhotenství rozdíl v sekreční odpovědi GLP-1, GIP a glukagonu během 3hodinového zátěžového testu s mixovanou stravou (MMTT – mixed meal tolerance test), měřeného pomocí celkové plochy pod křivkou (AUC), mezi těhotnými ženami se zvýšenou lačnou glykemií ve srovnání s kontrolními těhotnými a netěhotnými osobami. Druhým cílem bylo posoudit vztah mezi produkcí inkretinových hormonů a parametry inzulínové rezistence a funkce β -buněk v časně fázi těhotenství.

6.1. Metodika

Design studie, zařazovací a vylučovací kritéria

K ověření testované hypotézy byla navržena a zorganizována studie případů a kontrol v souladu se zásadami Helsinské deklarace ve znění z roku 2008. Plánovaná studie byla před

svým začátkem rovněž posouzena a schválena Etickou komisí Lékařské fakulty Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice v Olomouci (schválení č. 120/17). Všechny účastnice podepsaly před svým vstupem do studie informovaný souhlas.

Do studie byly zařazeny těhotné ženy v časně fázi těhotenství (8. - 14. týden). Diagnóza zvýšené lačné glykémie (i-FPG) byla založena na nejméně dvou měřeních plazmatické glukózy nalačno $\geq 5,1$ mmol/l a $<7,0$ mmol/l ve dvou různých dnech v průběhu prvního trimestru (8. - 14. týden) těhotenství [21]. Vylučovacími kritérii byla: DM 1. nebo 2. typu, sekundární nebo genetický typ diabetu, GDM v anamnéze, onemocnění ledvin, jater nebo štítné žlázy, užívání drog nebo alkoholu a souběžná medikace ovlivňující metabolismus glukózy a funkci GIT (glukokortikoidy, inhibitory protonové pumpy, prokinetika, pankreatické enzymy). Zdravé těhotné ženy měly po celou dobu těhotenství normální hladinu glukózy, včetně následného oGTT mezi 24. a 28. týdnem těhotenství. Do kontrolní skupiny byly zařazeny zdravé netěhotné ženy srovnatelného věku, které neměly anamnézu poruchy glukózové tolerance nebo diabetu (včetně GDM nebo anamnézy porodu dítěte s vysokou porodní hmotností, tj. ≥ 4500 g).

Při první kontrole byly od všech účastnic studie odebrány anamnestické údaje. Následně bylo provedeno měření tělesné hmotnosti a výšky (1. trimestr těhotenství), body mass index (BMI) byl vypočten jako tělesná hmotnost/tělesná výška² (kg/m²).

Toleranční test s mixovaným jídlem (MMTT)

K provedení tolerančního testu s mixovaným jídlem (MMTT – mixed meal tolerance test) bylo využito 200 ml komerčně dostupné tekuté enterální výživy (Fresubin Original Drink®, Fresenius Kabi, Německo; 100 ml obsahuje 420 kJ energetického příjmu, tj. 3,4 g (30 kJ %) tuků, 13,8 g (55 kJ %) sacharidů a 3,8 g (15 kJ %) bílkovin). Test byl proveden po 10hodinovém nočním lačnění mezi 7. a 10. hodinou ranní v 8. - 14. týdnu těhotenství. Vzorky krve byly odebrány na začátku (0 minut) testu a dále 30, 60, 120 a 180 minut po požití 200 ml tekuté enterální výživy. Vzorky pro měření GLP-1, GIP a glukagonu byly odebírány do speciálních krevních zkumavek s inhibičním činidlem sestávajícím z dipeptidylpeptidázy 4, esterázy a dalších inhibitorů proteáz (BD P800, Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, USA). Vzorky byly následně do 30 minut od odběru krve separovány centrifugací po dobu 10 minut při 1000 g. Plazma byla uchovávána v alikvotech při - 80 °C až do další analýzy.

Laboratorní analýza

Běžné biochemické parametry (glukóza, HbA1c, inzulin, C-peptid) byly měřeny automatickým analyzátozem Cobas 8000 (Roche) v den odběru krve. Koncentrace inkretinů a glukagonu byly měřeny v alikvotech vzorků uchovávaných při teplotě -80 °C nejdéle 6 měsíců od odběru. Hladina glukózy byla stanovena pomocí hexokinázové metody (GLUC3, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Německo). HbA1c byl měřen iontově výměnnou chromatografií analyzátozem Arkray Adams HA-8180 V (Arkray Corporation, Kyoto, Japonsko). Hladiny inzulinu a C-peptidu byly stanoveny pomocí komerčně dostupných souprav (Immunotech, Marseille, Francie) pomocí imunoradiometrického testu se specifickými protilátkami. Na základě hladin glukózy a inzulinu nalačno bylo provedeno hodnocení funkce β -buněk podle modelu homeostázy (HOMA- β), hodnocení inzulinové rezistence modelem homeostázy (HOMA- β) a hodnocení inzulinové rezistence s využitím modelu homeostázy (HOMA-IR) [63] a kvantitativním indexem kontroly citlivosti na inzulín (QUICKI) [64]. Plazmatické koncentrace glukagonu, GLP-1 a GIP byly měřeny komerčním multiplexním testem (Human Metabolic Hormone Magnetic Bead Panel, HMHEMAG34 K, Merck Millipore, USA). Citlivost byla 13,0 pg/ml pro glukagon, 1,2 pg/ml pro GLP-1 a 0,6 pg/ml pro GIP. Variabilita mezi testy byla u souprav <10 % a mezi testy <15 %.

Statistické analýza

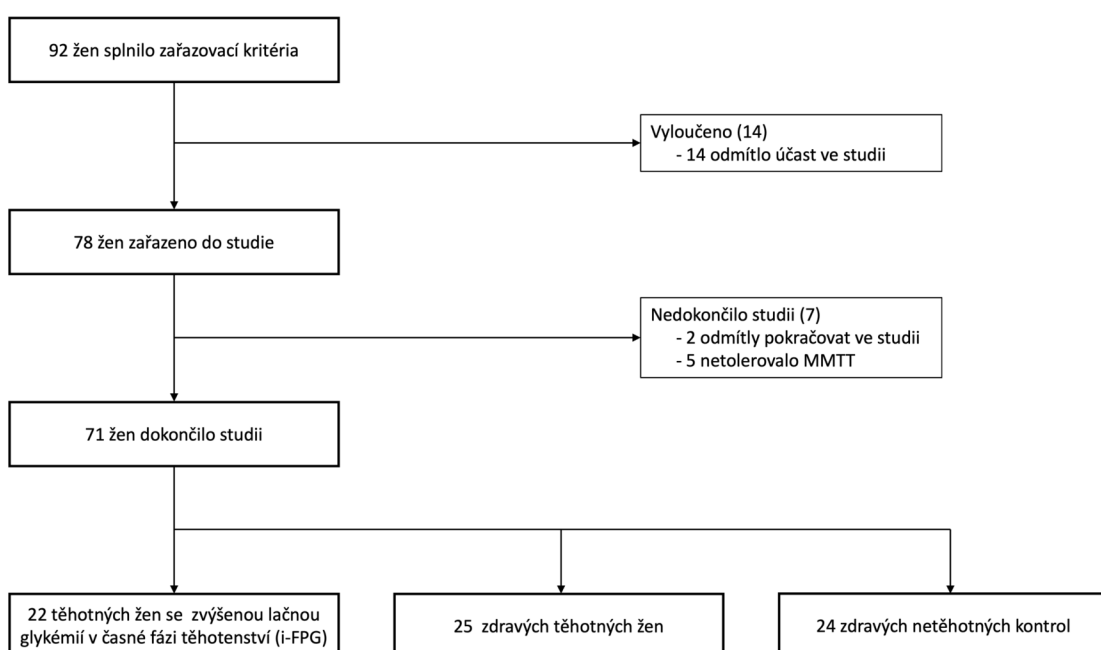
Všechny proměnné jsou uváděny jako průměr \pm směrodatná odchylka (SD) v případě normálně rozložených dat nebo jako medián (mezikvartilové rozpětí) v případě nenormálního rozložení dat. K testování normality rozdělení byl použit Shapiro-Wilkův test. Rozdíly v proměnných mezi skupinami byly analyzovány pomocí t-testu pro normálně rozložené proměnné nebo pomocí Mannova-Whitneyho U-testu pro proměnné s nenormálním rozložením. K vyjádření míry korelace byl použit Spearmanův koeficient. Průměrná plocha pod křivkou (AUC) byla vypočtena pomocí lichoběžníkového pravidla vyděleného časovým intervalem. $P < 0,05$ bylo považováno za statisticky významné. Statistické analýzy byly provedeny pomocí systému Python.

6.2. Výsledky

Základní klinická a laboratorní charakteristika a hladiny inkretinových hormonů v jednotlivých skupinách

Kritéria pro zařazení do této studie splnilo celkem 22 těhotných žen s časně diagnostikovanou zvýšenou lačnou glykemií (i-FPG), 25 zdravých těhotných žen a 24 netěhotných zdravých kontrol (obr. 6, tab. 6). Ženy s i-FPG měly významně vyšší hodnoty BMI, FPG, HbA1c a C-peptidu ve srovnání se zdravými těhotnými ženami a také ve srovnání s netěhotnými zdravými kontrolami. Pouze ve srovnání se zdravými těhotnými ženami měly také nižší HOMA- β . Zdravé těhotné ženy měly ve srovnání s netěhotnými zdravými kontrolami významně nižší lačnou glykémii. Mezi skupinami nebyly zjištěny žádné rozdíly v HOMA-IR a QUICKI. Hladiny FPG a HbA1c u všech těhotných žen pozitivně korelovaly s BMI ($p = 0,37$, resp. $p = 0,49$). V čase 0 nebyly mezi těhotnými ženami pozorovány žádné významné rozdíly v plazmatické koncentraci GLP-1, GIP nebo glukagonu nalačno. Ve srovnání s netěhotnými zdravými kontrolami měly obě skupiny těhotných žen nižší hladiny GIP. U těhotných žen s i-FPG byly také významně vyšší koncentrace GLP-1 nalačno ve srovnání s netěhotnými kontrolami (tab. 6, obr. 7).

Obrázek 6. Vývojový diagram studie.



Tabulka 6. Základní klinická a laboratorní charakteristika jednotlivých skupin.

| | Těhotné ženy i-FPG (n = 22) | Zdravé těhotné ženy (n = 25) | Zdravé netěhotné ženy (n = 24) |
|--------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------------|
| Věk (roky) | 31.6±5.0 | 29.4±3.0 | 29.2±3.5 |
| Gestační věk (týdny) | 11.3±2.1 | 11.0± 1.9 | - |
| Hmotnost (kg) | 80.0± 14.5 ^{bc} | 68.0±12.3 ^a | 64.0±6.8 ^a |
| BMI (kg/m ²) | 28.9±5.4 ^{bc} | 23.4±4.0 ^a | 22.6± 2.8 ^a |
| FPG (mmol/l) | 5.1 ±0.4 ^{bc} | 4.4±0.4 ^{a,c} | 4.7±0.3 ^{a,b} |
| HbA1C (mmol/mol) | 33.0±2.7 ^{bc} | 29.9±2.5 ^a | 31.1±1.8 ^a |
| C-peptid (pg/ml) | 1211 (720) ^{bc} | 840 (378) ^a | 1078 (526) ^a |
| Inzulin (pg/ml) | 348 (381) | 306 (343) | 296 (324) |
| HOMA-IR | 2.01 (1.85) | 1.40 (1.55) | 1.59 (1.80) |
| HOMA-β | 105 (108) ^b | 214 (283) ^a | 173 (143) |
| QUCKI | 0.34 (0.05) | 0.36 (0.05) | 0.36 (0.05) |
| GLP-1 (pg/ml) | 6.4 (14.9) ^c | 4.7 (19.9) | 2.6 (5.7) ^a |
| GIP (pg/ml) | 36.3 (28.4) ^c | 36.3 (35.5) ^c | 56.5 (46.6) ^{a,b} |
| Glukagon (pg/ml) | 49.2 (31.4) | 50.6 (32.2) | 38.9 (42.2) |

i-FPG = impaired fasting plasma glucose (zvýšená lačňá glykémie), BMI = body mass index, FPG = fasting plasma glucose (lačňá glykémie), HbA1c = glykovaný hemoglobin, HOMA-IR = homeostasis model assessment of insulin resistance, HOMA-B = homeostasis model assessment of B-cell function, QUCKI = quantitative insulin sensitivity check index, GLP-1 = glucagon-like peptide 1, GIP = glucose-dependent insulintropic peptide; Hodnoty vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka nebo jako medián a mezikvartilové rozpětí (pro data s nenormálním rozložením). Laboratorní vzorky odebírány nalačno.

Rozdíly hodnoceny (p <0.05) na základě t-testu (proměnné s normálním rozložením) nebo Mann-Whitney U-testu (proměnné s nenormálním rozložením); a = vs těhotné ženy s i-FPG, b = vs zdravé těhotné ženy, c = vs zdravé netěhotné kontroly.

Změny hladin glukózy a hormonů během MMTT

Změny plazmatických koncentrací glukózy a sledovaných hormonů během MMTT jsou uvedeny na obrázku 7. Ženy s i-FPG měly ve srovnání se zdravými těhotnými nebo netěhotnými ženami statisticky významně vyšší hladiny C-peptidu v průběhu celého MMTT a vyšší hladiny plazmatické glukózy ve 30., 60. a 120. minutě testu. Měly také vyšší hladiny inzulinu v 60. a 120. minutě MMTT, ale pouze ve srovnání s netěhotnými ženami. Zdravé těhotné ženy měly ve srovnání s netěhotnými kontrolami významně nižší glykémii ve 180. minutě, vyšší C-peptid v 60. a 120. minutě a inzulin v 60. minutě MMTT.

Tabulka 7 uvádí AUC pro hladiny glukózy a hormonů v jednotlivých skupinách. Plocha pod křivkou pro glukózu ($glukóza_{AUC}$), C-peptid ($C-peptid_{AUC}$) a inzulin ($inzulin_{AUC}$) byla významně vyšší u těhotných žen s i-FPG ve srovnání se zdravými těhotnými ženami nebo netěhotnými kontrolami. Tyto rozdíly však nebyly významné po korekci na BMI. Vyšší hladiny

GLP-1 u všech těhotných žen ve srovnání s netěhotnými kontrolami byly pozorovány pouze ve 180. minutě MMTT. Během testu nebyly mezi skupinami zjištěny žádné další signifikantní rozdíly v hladinách GLP-1 a nebyly zjištěny ani signifikantní rozdíly v hladinách glukagonu a GIP. Nebyly zjištěny žádné významné rozdíly v $GLP-1_{AUC}$, GIP_{AUC} , $glukagon_{AUC}$ mezi vyšetřovanými skupinami (tab. 7). U všech těhotných žen byla zjištěna korelace mezi $GLP-1_{AUC}$ a GIP_{AUC} ($\rho = 0,41$) a mezi $glukagon_{AUC}$ a $GLP-1_{AUC}$ ($\rho = 0,37$) i GIP_{AUC} ($\rho = 0,36$). U těhotných žen s i-FPG korelovala $glukagon_{AUC}$ s $GLP-1_{AUC}$ ($\rho = 0,48$), zatímco u zdravých těhotných žen existovala korelace mezi $glukagon_{AUC}$ a GIP_{AUC} ($\rho = 0,49$). Korelace mezi vybranými základními parametry a $GLP-1_{AUC}$, GIP_{AUC} a $glukagon_{AUC}$ jsou uvedeny v tabulce 8.

Tabulka 7. Plocha pod křivkou (AUC) pro glukózu a inkretinové hormony během 3hodinového MMTT u jednotlivých skupin.

| | Těhotné ženy i-FPG (n=22) | Zdravé těhotné ženy (n=25) | Netěhotné kontroly (n=24) | p-value |
|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------------|----------------|
| glukóza_{AUC} (mmol/mL/min) | 5.47±1.00 ^{b,c} | 4.40±0.64 ^a | 4.40±0.53 ^a | <0.001 |
| glukóza_{AUC} adjustace BMI (mmol/mL/min) | 5.05±0.88 | 4.54±0.73 | 4.62±0.48 | NS |
| C-peptid_{AUC} (pg/mL/min) | 3037 (833) ^{b,c} | 2307 (822) ^a | 2092 (554) ^a | <0.001 |
| C-peptid_{AUC} adjustace BMI (pg/mL/min) | 2716 (954) | 2477 (941) | 2235 (760) | NS |
| inzulin_{AUC} (pg/mL/min) | 1979 (973) ^{b,c} | 1271 (734) ^a | 1001 (692) ^a | 0.007 |
| inzulin_{AUC} adjustace BMI (pg/mL/min) | 1751 (660) | 1485 (940) | 1079 (723) | NS |
| GLP- 1_{AUC} (pg/mL/min) | 19.0 (53.1) | 16.7 (22.3) | 16.7 (9.8) | NS |
| GLP-1_{AUC} adjustace BMI (pg/mL/min) | 19.6 (54.9) | 16.9 (18.5) | 17.0 (10.6) | NS |
| GIP_{AUC} (pg/mL/min) | 317±124 | 290±89 | 303±80 | NS |
| GIP_{AUC} adjustace BMI (pg/mL/min) | 336±119 | 286±85 | 297±81 | NS |
| glukagon_{AUC} (pg/mL/min) | 63.2±28.1 | 61.7±32.9 | 60.6±29.5 | NS |
| glukagon_{AUC} adjustace BMI (pg/mL/min) | 65.8±26.9 | 61.6±32.9 | 60.3±29.4 | NS |

i-FPG = impaired fasting plasma glucose (zvýšená lačná glykémie), GLP-1 = glucagon-like peptide 1, GIP = glucose-dependent insulinotropic peptide, AUC = plocha pod křivkou během 3 h tolerančního testu s mixovanou stravou, NS = nesignifikantní.

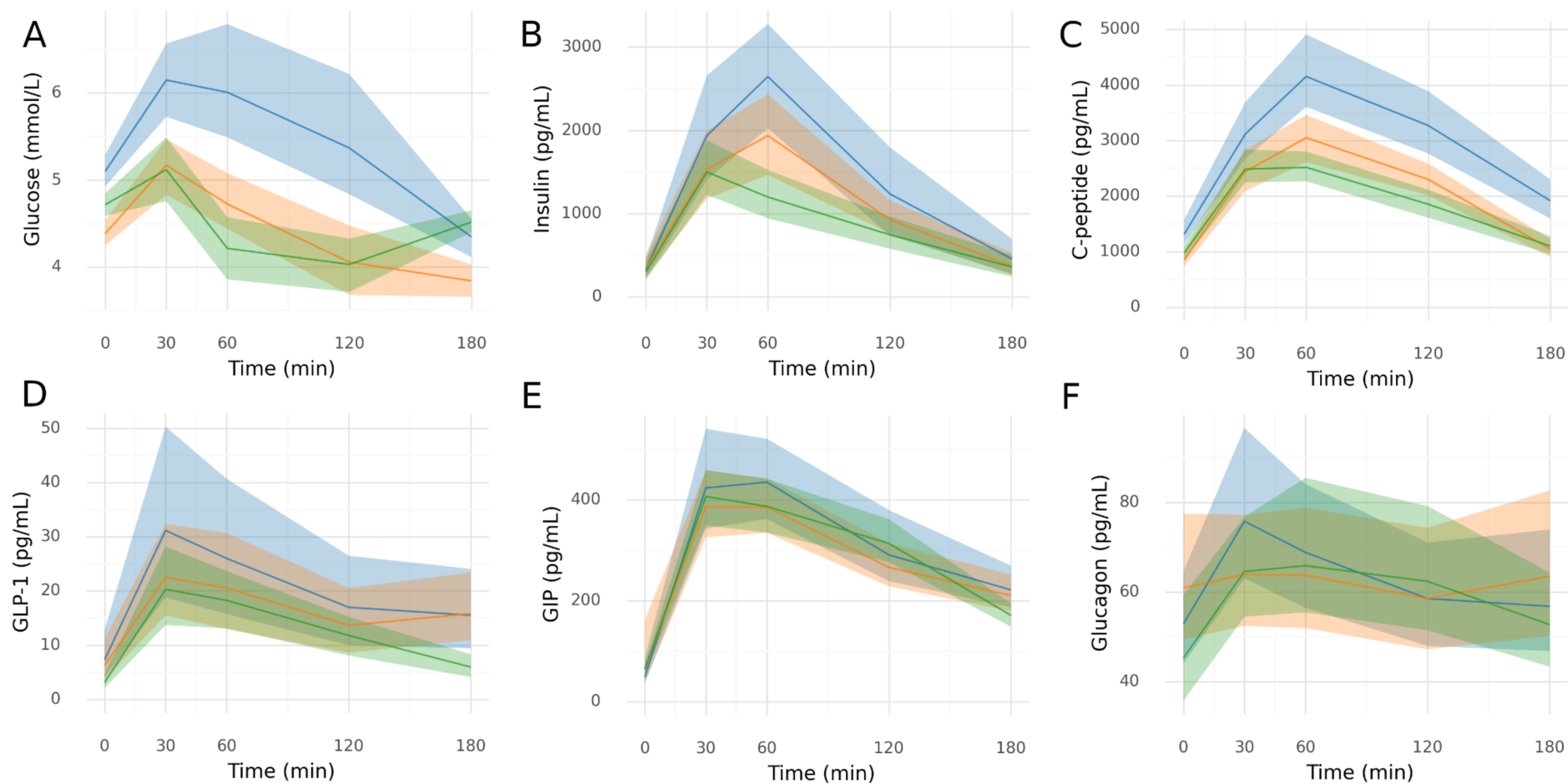
Rozdíl mezi skupinami byl testován jednosměrnou ANOVA pro normální rozložení proměnných nebo Kruskal–Wallis testem v opačném případě. Holm–Bonferroni procedura byla využita pro korekci vícečetného testování. V případě signifikantních rozdílů bylo využito párových testů - t-test pro normální distribuci proměnných nebo Mann–Whitney U-test v opačné případě; a = vs těhotné ženy s i-FPG, b = vs zdravé těhotné ženy, c = vs zdravé netěhotné kontroly.

Tabulka 8. Korelace mezi základními parametry a inkretinovými hormony.

| | | i FPG | | Zdravé těhotné | | Všechny těhotné | | Netěhotné | |
|-----------------|----------|----------|-------|----------------|--------|-----------------|-------|-----------|-------|
| | | Na lačno | AUC | Na lačno | AUC | Na lačno | AUC | Na lačno | AUC |
| Věk | GLP-I | -0.09 | -0.08 | 0.21 | 0.23 | 0.07 | 0.12 | -0.16 | -0.23 |
| | GIP | -0.33 | -0.04 | 0.18 | 0.14 | -0.08 | 0.09 | -0.21 | -0.06 |
| | Glukagon | -0.01 | -0.21 | -0.02 | 0.09 | 0.02 | -0.04 | -0.26 | -0.20 |
| BMI | GLP-I | -0.15 | -0.42 | -0.01 | -0.09 | 0.01 | -0.12 | -0.42* | -0.37 |
| | GIP | -0.35 | -0.08 | -0.01 | -0.36 | -0.17 | -0.12 | -0.17 | 0.08 |
| | Glukagon | 0.25 | 0.10 | 0.04 | -0.12 | 0.09 | 0.09 | -0.34 | -0.27 |
| HbA1c | GLP-I | 0.08 | 0.02 | 0.14 | 0.09 | 0.15 | 0.10 | 0.02 | -0.08 |
| | GIP | -0.51* | -0.09 | -0.13 | -0.13 | -0.30* | -0.08 | -0.15 | -0.11 |
| | Glukagon | 0.30 | 0.17 | 0.08 | -0.07 | 0.11 | 0.03 | -0.37 | -0.28 |
| FPG | GLP-I | -0.08 | 0.02 | -0.47* | -0.15 | -0.19 | 0.03 | 0.10 | -0.14 |
| | GIP | -0.43* | -0.16 | -0.50* | -0.27 | -0.36* | -0.13 | 0.02 | 0.19 |
| | Glukagon | 0.26 | 0.15 | -0.40* | -0.44* | -0.16 | -0.09 | -0.11 | -0.06 |
| C-peptid | GLP-I | 0.06 | -0.13 | 0.40* | 0.20 | 0.24 | 0.05 | -0.02 | 0.03 |
| | GIP | 0.02 | -0.05 | 0.17 | 0.41* | 0.08 | 0.21 | 0.39 | 0.37 |
| | Glukagon | 0.05 | -0.01 | 0.17 | 0.10 | 0.08 | 0.06 | 0.41* | 0.45* |
| HOMA-IR | GLI | 0.27 | 0.12 | 0.30 | 0.03 | 0.29 | 0.12 | -0.08 | 0.04 |
| | GIP | -0.18 | 0.16 | 0.42* | 0.14 | 0.15 | 0.15 | 0.17 | -0.02 |
| | Glukagon | 0.34 | 0.29 | 0.32 | 0.26 | 0.33* | 0.27 | 0.24 | 0.39 |
| HOMA-β | GLP-I | 0.30 | 0.13 | 0.45* | 0.05 | 0.35* | 0.08 | -0.08 | 0.03 |
| | GIP | -0.06 | 0.11 | 0.66*** | 0.33 | 0.36* | 0.20 | 0.27 | -0.04 |
| | Glukagon | 0.25 | 0.23 | 0.45* | 0.45* | 0.42** | 0.33* | 0.36 | 0.45* |
| QUICKI | GLP-I | -0.27 | -0.12 | -0.30 | -0.03 | -0.29 | -0.12 | 0.08 | -0.04 |
| | GIP | 0.18 | -0.16 | -0.42* | -0.14 | -0.15 | -0.15 | -0.17 | 0.02 |
| | Glukagon | -0.34 | -0.29 | -0.32 | -0.26 | -0.33* | -0.27 | -0.24 | -0.39 |

iFPG = impaired fasting plasma glucose (zvýšená lačná glykémie), BMI = body mass index, FPG = fasting plasma glucose (lačná glykémie), HbA1c = glykovaný hemoglobin, HOMA-IR = homeostasis model assessment of insulin resistance, HOMA-β = homeostasis model assessment of β-cell function, QUICKI = quantitative insulin sensitivity check index, GLP-1 = glucagon-like peptide 1, GIP = glucose-dependent insulinotropic peptide, AUC = plocha pod křivkou během 3 h tolerančního testu s mixovanou stravou. Statistická významnost: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.

Obrázek 7. Změny v hladinách glukózy a vybraných hormonů během 3hodinového MMTT.



Změny plazmatických koncentrací glukózy a hormonů během MMTT v jednotlivých skupinách. Glukóza, GIP a glukagon zobrazeny jako průměr a 95% interval spolehlivosti. Inzulin, C-peptid a GLP-1 následují logaritmicke-normální rozložení, proto zobrazeny jako geometrický průměr a 95% interval spolehlivosti. Modrá = těhotné ženy s i-FPG, červená = zdravé těhotné ženy, zelená = netěhotné kontroly.

6.3. Diskuse

Ve studii jsme testovali hypotézu, zda budou ženy se zvýšenou glykemií nalačno ve srovnání se zdravými těhotnými ženami vykazovat v časně fázi těhotenství změny v sekreci inkretinových hormonů během tolerančního testu s mixovanou stravou. Těhotné ženy s časně diagnostikovanou zvýšenou lačnou glykemií byly více obézní a vykazovaly známky poruchy funkce beta-buněk (HOMA- β). Ačkoli měly tyto ženy vyšší hladiny C-peptidu, markery inzulinové rezistence (HOMA IR, QUICKI) se ve srovnání s kontrolami významně nelišily. Navzdory výše uvedeným změnám v homeostáze glukózy a sekreci inzulínu neprokázala naše studie významné rozdíly v koncentraci GLP-1 a GIP nalačno a během 3hodinového MMTT.

Pouze několik studií zkoumalo koncentrace inkretinových hormonů (GLP-1 a GIP) u těhotných žen s diagnózou GDM. Výsledky však nebyly jednoznačné. Cypryk et al. nezjistili zhoršenou sekreci GLP-1 a GIP během oGTT u žen s GDM [61]. V jejich souboru byly těhotné ženy s GDM více inzulinorezistentní než ženy bez GDM. Sníženou sekreci GLP-1 během oGTT u těhotných žen s GDM pozorovali Lencioni et al. [62]. Tyto ženy měly podobnou hmotnost a BMI ve srovnání se zdravými těhotnými kontrolami, ale vykazovaly poruchu časně fáze sekrece inzulínu a zhoršenou inzulinovou senzitivitu. Sníženou sekreční odpověď GLP-1 během oGTT zjistili také Sukumar et al. [60]. Ve své studii prokázali u těhotných žen s GDM zhoršenou sekreci inzulínu, ale v porovnání se zdravými těhotnými ženami neprokázali rozdíl v HOMA-IR. Bonde et al. zkoumali postprandiální odpovědi GLP-1 u těhotných žen s GDM během MMTT [65]. Sekreční odpověď GLP-1 se u těhotných žen s GDM a bez GDM v pozdní fázi těhotenství (3. trimestr) nelišila. Pokud však srovnali sekreci GLP-1 v těhotenství s obdobím 3-4 měsíce po porodu, našli snížení GLP-1 u těhotných žen. Mosavat et al. zjistili nižší hladiny GLP-1 i GIP nalačno u pacientek s GDM [66]. Tyto ženy vykazovaly zhoršenou funkci β -buněk měřenou pomocí HOMA- β . Nižší hladiny GLP-1 a GIP byly nezávisle asociovány se zvýšeným rizikem GDM. Fritsche et al. překvapivě zjistili zvýšenou sekreci GLP-1 a GIP během OGTT u žen s GDM [67]. Tyto ženy měly nižší sekreci inzulínu a podobný BMI ve srovnání se zdravými kontrolami. Autoři vysvětlují výraznou odpověď GLP-1 jako součást kompenzačního mechanismu působícího proti rezistenci na GLP-1 u osob s GDM. Je nutné poznamenat, že všechny výše uvedené studie se zaměřily na těhotné ženy, kterým byl GDM diagnostikován až ve druhém nebo na počátku třetího trimestru. Rozdílné nálezy proto mohou

být způsobeny různým podílem inzulinové rezistence a/nebo poruchou sekrece inzulinu (v důsledku poruchy produkce inkretinů nebo inkretinové rezistence) u žen s různými fenotypy GDM. V naší studii sice ženy se zvýšenou lačnou glykemií v prvním trimestru (i-FPG) vykazovaly sníženou funkci β -buněk, ale koncentrace GLP-1 nebo GIP nalačno změněny nebyly. Rovněž nebyly zjištěny žádné významné změny v sekreci těchto hormonů během 3hodinového perorálního MMTT. Naše studie tedy neprokazuje, že by narušená sekrece inkretinů hrála významnou roli v rozvoji časně poruchy glukózového metabolismu v těhotenství. Podobně jako jiní [60,67] jsme ani my nezjistili u těhotných žen rozdíly v sekreci glukagonu nalačno nebo po zátěži stravou. V současné době převládá názor, že GLP-1 inhibuje, zatímco GIP stimuluje sekreci glukagonu [68]. U všech těhotných žen byla zjištěna významná pozitivní korelace mezi produkcí glukagonu a obou inkretinových hormonů v průběhu MMTT. U zdravých těhotných žen byla významná korelace nalezena pouze mezi $\text{glukagon}_{\text{AUC}}$ a GIP_{AUC} , zatímco u žen s poruchou glykémie nalačno koreluje $\text{glukagon}_{\text{AUC}}$ pouze s $\text{GLP-1}_{\text{AUC}}$. Jedním z popisovaných projevů inkretinové rezistence je také snížená schopnost GLP-1 suprimovat sekreci glukagonu [69]. Výsledky naší studie však nenasvědčují významnému podílu zvýšené sekrece glukagonu v patogenezi časněho GDM.

Jedním z možných důvodů, proč se v naší studii inkretinová sekrece mezi skupinami nelišila, může být zaměření na těhotné ženy s časně diagnostikovanou i-FPG. Tyto výsledky tedy nelze extrapolovat na ženy s normální hladinou glukózy v prvním trimestru těhotenství, u kterých je GDM diagnostikován až v pozdější fázi těhotenství (zpravidla ve 24. - 28. týdnu). V naší studii jsme MMTT v pozdější fázi těhotenství neprováděli, proto nemůžeme vyloučit, že se změněná sekrece inkretinů u žen s časně diagnostikovanou poruchou glykémie nalačno může objevit později. Dalším důvodem absence rozdílů v sekreci inkretinů mezi skupinami může být nedostatečná etnická rozmanitost. Různá rasová/etnická příslušnost je spojena s různou prevalencí glukózové intolerance během těhotenství [59]. Obezita matek byla spojena s vyšším C-peptidem a nižší inzulinovou senzitivitou i v prvním trimestru těhotenství [26]. Dieta a mírné až středně intenzivní cvičení byly účinné v prevenci GDM [70]. V naší studii jsme zjistili vyšší hladiny C-peptidu jak ve stavu nalačno, tak během MMTT u žen s i-FPG ve srovnání se zdravými kontrolami. Po adjustaci na BMI však $\text{C-peptid}_{\text{AUC}}$ nevykazoval významný rozdíl. Přestože BMI nekorelovalo s produkcí inkretinů nalačno ani po zátěži stravou a ženy se

zvýšenou lačnou glykemií nevykazovaly významné zvýšení markerů inzulinové rezistence (HOMA-IR, QUICKI), byla u nich prokázána snížená funkce β -buněk (HOMA- β).

6.4. Závěr

Ženy s časně diagnostikovanou zvýšenou lačnou glykemií nevykazovaly v prvním trimestru těhotenství změněnou sekreci inkretinových hormonů (GLP-1, GIP) nalačno ani po zátěži stravou. Tyto pacientky byly více obézní a vykazovaly známky snížené funkce β -buněk. Na rozdíl od obezity se zdá, že narušená sekrece inkretinových hormonů nehraje v časně fázi těhotenství významnou roli v rozvoji GDM.

7. Plazmatické koncentrace vybraných adipokinů u žen s časnou diagnózou gestačního diabetu

Předpokládáme, že cirkulující hladiny glukoregulačních adipokinů jsou u žen s GDM změněny již v prvním trimestru těhotenství. Časná intervence ve smyslu dietních opatření a farmakologické léčby by pak mohla zlepšit nepříznivý metabolický účinek adipokinů a ovlivnit jejich koncentrace v dalším průběhu těhotenství. Za tímto účelem jsme porovnávali plazmatické koncentrace adiponektinu, A-FABP a FGF-19 u žen s časně diagnostikovaným GDM s koncentracemi u zdravých těhotných žen a zdravých netěhotných kontrol. Současně jsme studovali jejich změny v průběhu těhotenství.

7.1. Metodika

Design studie, zařazovací a vylučovací kritéria

Provedli jsme studii případů a kontrol v souladu se zásadami Helsinské deklarace ve znění z roku 2008. Plánovaná studie byla před svým začátkem rovněž posouzena a schválena Etickou komisí Lékařské fakulty Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice v Olomouci (schválení č. 120/17). Všechny účastnice podepsaly před svým vstupem do studie informovaný souhlas.

Diagnóza časného GDM byla podobně jako v předchozí studii stanovena na základě opakovaného průkazu lačné glykémie FPG $\geq 5,1$ mmol/l a $< 7,0$ mmol/l během prvního trimestru těhotenství (8. - 14. týden) [21]. Vylučovacími kritérii byla přítomnost DM 1. nebo 2. typu, sekundárního, genetického typu diabetu nebo anamnéza GDM v předchozím těhotenství. Všechny těhotné ženy byly zařazeny do studie v prvním trimestru a sledovány po zbytek těhotenství až do porodu. Zdravé těhotné ženy měly po celou dobu těhotenství normální hladinu glukózy, včetně oGTT, který byl proveden mezi 24. a 28. týdnem těhotenství [21]. Do kontrolní skupiny byly zařazeny zdravé netěhotné ženy srovnatelného věku, které neměly anamnézu poruchy glukózové tolerance nebo diabetu (včetně GDM nebo anamnézy porodu dítěte s vysokou porodní hmotností, tj. ≥ 4500 g). Všechny účastnice studie měly rovněž normální funkci štítné žlázy.

Při první kontrole byly od všech žen odebrány anamnestické údaje. Následně bylo provedeno měření tělesné hmotnosti, obvodu pasu, systolického (STK) a diastolického (DTK) tlaku krve. Byl vypočítán BMI jako tělesná hmotnost/tělesná výška² (kg/m²). Obvod pasu byl měřen ve stoje, uprostřed mezi předním kyčelním hřebenem a dolním okrajem žeber. V průběhu studie byly všechny těhotné ženy (s GDM nebo bez GDM) vyšetřeny v prvním (8. - 14. týden), druhém (24. - 28. týden) a třetím (34. - 38. týden) trimestru. Při každé návštěvě byla kontrolována tělesná hmotnost, BMI, obvod pasu, STK, DTK, z laboratorních parametrů pak glykémie, HbA1c a hladiny adipokinů (adiponektin, A-FABP, FGF-19).

U žen s GDM byla již během první návštěvy (v 1. trimestru) zavedena časná terapeutická intervence. Ta spočívala v nutriční edukaci s doporučenou dietou omezující příjem sacharidů (175 g sacharidů nebo 35 % z příjmu 2000 kalorií, minimálně 71 g bílkovin a 28 g vlákniny; důraz byl kladen na mononenasycené a polynenasycené tuky, zatímco nasycené tuky byly omezeny). Dále byla doporučena fyzická aktivita, spočívající v 30minutovém cvičení (chůze střední intenzity) alespoň 5 dnů v týdnu.

Farmakologická léčba GDM byla u těhotných žen zahájena, pokud bylo během těhotenství splněno alespoň jedno z následcích kritérií: opakovaná hladina FPG >5,3 mmol/l; glykémie 1 hodinu po jídle >7,8 mmol/l nebo glykémie 2 hodiny po jídle >6,7 mmol/l [71,72].

Laboratorní metody

Vzorky žilní krve byly odebrány ráno po 12hodinovém lačnění. Běžné biochemické parametry séra (glukóza, HbA1c a C-peptid) byly analyzovány v den odběru krve. Koncentrace adipokinů byly měřeny v alikvotech, uchovávaných při teplotě -80 °C nejdéle po dobu 6 měsíců. Hladiny glukózy byly v séru stanoveny metodou hexokinázy (GLUC3, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Německo) na automatickém analyzátoru Cobas 8000 (Roche). Hladiny HbA1c byly měřeny iontově výměnnou chromatografií na analyzátoru Arkray Adams HA-8180V (Arkray Corporation, Kjóto, Japonsko). Hladiny C-peptidu byly stanoveny pomocí komerčně dostupné soupravy (Immunotech, Marseille, Francie) s využitím imunoradiometrického testu se specifickými protilátkami.

Adiponektin byl stanoven pomocí imunochemické soupravy Human Adiponectin ELISA (Biovendor Laboratory Medicine Inc., Brno, Česká republika) podle návodu výrobce. Protilátky použité v této soupravě jsou specifické pro lidský adiponektin. Citlivost testu byla

26 ng/ml; variační koeficienty přesnosti (CV) byly 4,9 % (intra-assay) a 6,7 % (inter-assay). Hladiny A-FABP byly stanoveny pomocí soupravy ELISA Human Adipocyte FABP4 (Biovendor Laboratory Medicine Inc.) podle pokynů výrobce. Protilátky použité v tomto testu ELISA jsou specifické pro lidský A-FABP. Citlivost testu byla 0,08 ng/ml; CV přesnosti bylo 2,5 % (intra-assay) a 3,9 % (inter-assay). Hladiny FGF-19 byly získány pomocí testu Human FGF-19 ELISA (Biovendor Laboratory Medicine Inc.) podle pokynů výrobce. Protilátky použité v tomto testu ELISA jsou specifické pro lidský FGF-19. Citlivost testu byla 4,8 pg/ml; CV přesnosti bylo 6 % (intra-assay) a 7,5 % (inter-assay).

Statistické metody

Výsledky byly vyjádřeny pomocí mediánů a mezikvartilových rozptylů. Rozdíly v proměnných mezi skupinami byly hodnoceny s využitím Mannova-Whitneyho U-testu. Rozdíly mezi vzorky v jednotlivých trimestrech byly analyzovány Wilcoxonovým signed-rank testem. Spearmanova korelační analýza testovala korelace mezi parametry ve všech skupinách. K vyjádření míry korelace mezi parametry pak byl použit Spearmanův koeficient (ρ). Testování nezávislých asociací mezi závislými a nezávislými proměnnými bylo provedeno pomocí mnohonásobné lineární regresní analýzy. Hodnota $p < 0,05$ byla považována za statisticky významnou. Pro statistickou analýzu byl použit software Statistica 14.0.

7.2. Výsledky

Základní klinické a laboratorní parametry a hladiny adipokinů v jednotlivých skupinách

Do studie bylo zařazeno celkem 23 těhotných žen s časně diagnostikovaným GDM, 29 těhotných žen bez GDM a 25 zdravých netěhotných. Základní laboratorní parametry a hladiny adipokinů uvádí tabulka 9. V prvním trimestru měly ženy s časnou diagnózou GDM významně vyšší hmotnost, BMI, obvod pasu, FPG, HbA1c a hladinu C-peptidu. Hladina adiponektinu byla významně snižena, zatímco hladina A-FABP byla významně vyšší. Ve všech vyjmenovaných parametrech se tak ženy s časnou diagnózou GDM lišily od obou zbylých skupin (zdravé těhotné ženy a zdravé netěhotné kontroly).

Těhotné ženy bez GDM měly ve srovnání se zdravými netěhotnými kontrolami významně vyšší obvod pasu a hladiny C-peptidu, ale nižší hladiny FPG a HbA1c. V obou

skupinách byl rovněž nalezen rozdíl v hladinách A-FABP, kdy byla tato hladina u zdravých těhotných žen významně snížena.

Mezi skupinami nebyly zjištěny žádné významné rozdíly v hladině FGF-19. Analýza ANCOVA ukázala stejné významné rozdíly v adipokinech mezi jednotlivými skupinami i po adjustaci na BMI.

Tabulka 9. Základní a klinické parametry v jednotlivých skupinách.

| | Těhotné ženy GDM+ (n = 23) | Těhotné ženy GDM- (n = 29) | Netěhotné ženy (n = 25) |
|---------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|
| Věk (roky) | 32.0 (27.1-36.2) | 30.0 (27.9-32.3) | 29.4 (26.6-33.0) |
| Týden těhotenství (týdny) | 11.1 (10.2-11.8) | 10.9 (9.9-11.6) | - |
| Hmotnost (kg) | 80.2 (72.3-88.9) ^{b,c} | 65.1 (61.3-74.9) ^a | 63.6 (59.9-67.6) ^a |
| BMI (kg/m ²) | 28.5 (25.4-32.8) ^{b,c} | 23.4 (20.4-25.1) ^a | 21.9 (20.3-23.9) ^a |
| Pas (cm) | 96.3 (91.4-97.8) ^{b,c} | 80.5 (74.4-87.5) ^{a,c} | 75.5 (70.4-81.6) ^{a,b} |
| STK (mmHg) | 121.9 (109.1-129.4) | 120.2 (111.5-127.4) | 117.1 (110.0-126.9) |
| DTK (mmHg) | 76.3 (67.2-81.6) | 78.0 (69.8-81.3) | 74.2 (69.0-80.6) |
| FPG (mmol/l) | 5.1 (4.9-5.3) ^{b,c} | 4.3 (4.1-4.4) ^{a,c} | 4.7 (4.5-4.8) ^{a,b} |
| HbA1c (mmol/mol) | 32.3 (30.6-34.9) ^{b,c} | 30.0 (27.5-32.2) ^{a,c} | 31.0 (30.9-33.2) ^{a,b} |
| C-peptid (pmol/l) | 922.4 (533.5-1468.0) | 602.1 (416.5-748.3) ^a | 510.5 (405.0-595.6) ^a |
| Adiponectin (eg/mL) | 8.9 (7.2-11.1) ^{b,c} | 11.1 (9.8-13.4) ^a | 10.6 (9.3-12.6) ^a |
| A-FABP (ng /mL) | 28.6 (20.4-39.4) | 13.7 (10.8-16.2) ^{a,c} | 20.3 (17.7-26.8) ^{a,b} |
| FGF-19 (pg/mL) | 182.2 (101.3-309.3) | 216.4 (131.7-350.5) | 266.6 (164.4-320.3) |

GDM = gestační diabetes mellitus; BMI = body mass index; STK = systolický tlak krve; DTK = diastolický tlak krve; FPG = fasting plasma glucose (lačná glykémie); HbA1C = glykovaný hemoglobin; A-FABP = adipocyte fatty acid-binding protein; FGF-19 = fibroblast growth factor-19. Hodnoty vyjádřeny jako medián (25. a 75. percentil). Signifikantní rozdíl ($p < 0.05$) podle Mann-Whitney U-test: a = vs. těhotné ženy s GDM; b = vs. těhotné ženy bez GDM; c = vs. zdravé netěhotné ženy

Změny klinických parametrů, glykemické kontroly a adipokinů v průběhu těhotenství

Změny vybraných klinických parametrů, kontroly glykémie a adipokinů během těhotenství jsou uvedeny v tabulce 10. Všem pacientkám s GDM byla při první návštěvě doporučena dietní opatření a pravidelná fyzická aktivita. U 30 % z nich (7 z 23) bylo nutné zahájit farmakologickou léčbu. Léčba byla zahájena s mediánem v 15. týdnu (14-17) těhotenství. Ve všech případech byl podáván inzulín. Vzhledem k časně intervenci GDM nebyly mezi těhotnými ženami s časnou diagnózou GDM a těhotnými ženami bez GDM ve druhém a třetím trimestru ve srovnání s prvním trimestrem zjištěny žádné významné rozdíly v hmotnosti, BMI a HbA1c. Zatímco se hmotnost a BMI u zdravých těhotných žen v průběhu

celého těhotenství postupně zvyšovaly, došlo u těhotných žen s GDM k významnému nárůstu hmotnosti a BMI až ve třetím trimestru. Hladina lačné glykémie pak byla významně vyšší u těhotných žen s GDM pouze ve třetím trimestru. Stejně jako v prvním trimestru nebyly ve druhém a třetím trimestru zjištěny žádné významné rozdíly v krevním tlaku (STK a DTK). Změny v hladinách adipokinů odrážely změny tělesné hmotnosti a BMI (*tab. 10, obr. 8*). Koncentrace adiponektinu zůstaly u těhotných žen s GDM téměř beze změny. Naproti tomu se u těhotných žen bez GDM a také u netěhotných významně snížily. V důsledku toho nebyly zjištěny žádné významné rozdíly v hladinách adiponektinu mezi skupinami těhotných žen (GDM+ vs GDM-) během druhého a třetího trimestru.

A-FABP se během těhotenství snížil u žen s GDM a zvýšil u žen bez GDM. A-FABP byl tedy u pacientek s GDM významně vyšší pouze ve druhém trimestru, zatímco ve třetím trimestru se mezi skupinami (GDM+ vs. GDM-) nelišil. V obou skupinách nebyly v průběhu těhotenství pozorovány žádné významné změny FGF-19. Hladiny FGF-19 se mezi skupinami (GDM+ vs GDM-) v průběhu celé studie významně nelišily.

Tabulka 10. Změny klinických parametrů, adipokinů a kontroly glykémie v průběhu těhotenství u žen s diagnózou a bez diagnózy GDM.

| | | První trimestr (8. –12. týden) | Druhý trimestr (24. – 28. týden) | Třetí trimestr (34. – 38. týden) |
|-----------------------------|------|------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|
| Hmotnost (kg) | GDM+ | 80.2 (72.3-88.9) | 77.5 (68.0-93.9) ^c | 82.0 (77.2-90.0) ^b |
| | GDM- | 65.1 (61.3-74.9) ^{b,c} | 77.0 (71.2-82.2) ^{a,c} | 83.2 (74.7-90.5) ^{a,b} |
| BMI (kg/m ²) | GDM+ | 28.5 (25.4-32.8) | 27.5 (23.7-32.4) ^c | 27.4 (25.8-33.8) ^b |
| | GDM- | 23.4 (20.4-25.1) ^{b,c} | 25.9 (23.6-28.0) ^{a,c} | 28.5 (25.1-31.0) ^{ab} |
| Pas (cm) | GDM+ | 96.3 (91.4-97.8) ^c | 104.5 (98.3-110.1) ^c | 108.3 (103.2-114.4) ^{a,b} |
| | GDM- | 80.5 (74.4-87.5) ^{b,c} | 96.0 (90.2-102.5) ^{a,c} | 106.1 (98.7-114.5) ^{a,b} |
| STK (mmHg) | GDM+ | 121.9 (109.1-129.4) | 120.0 (112.5-129.6) | 123.8 (117.3-132.1) |
| | GDM- | 120.2 (111.5-127.4) | 118.1 (108.9-120.4) | 121.2 (114.0-130.5) |
| DTK (mmHg) | GDM+ | 76.3 (67.2-81.6) | 73.2 (69.5-76.5) ^c | 82.1 (74.7-85.3) ^b |
| | GDM- | 78.0 (69.8-81.3) | 71.2 (64.9-75.1) | 77.5 (88.0-81.0) |
| FPG (mmol/l) | GDM+ | 5.1 (4.9-5.3) ^b | 4.5 (4.4-5.0) ^a | 4.8 (4.3-5.3) |
| | GDM- | 4.3 (4.1-4.4) | 4.2 (4.0-4.9) | 4.4 (4.1-4.5) |
| HbA1c (mmol/mol) | GDM+ | 32.3 (30.6-34.9) ^c | 31.0 (30.2-33.1) ^c | 36.0 (32.0-38.5) ^{ab} |
| | GDM- | 30.0 (27.5-32.2) ^c | 29.5 (28.1-31.0) ^c | 33.3 (31.0-34.2) ^{a,b} |
| Adiponectin (eg/ml) | GDM+ | 8.9 (7.2-11.1) | 8.9 (7.7-10.3) | 9.0 (7.3-10.7) |
| | GDM- | 11.1 (9.8-13.4) ^c | 10.2 (7.2-13.5) | 9.1 (8.0-12.1) ^a |
| A-FABP (ng/ml) | GDM+ | 28.6 (20.4-39.4) ^{b,c} | 21.8 (12.8-26.2) ^a | 23.8 (19.4-30.1) ^a |
| | GDM- | 13.7 (10.8-16.2) ^c | 14.3 (11.0-18.0) ^c | 22.4 (13.4-29.3) ^{a,b} |
| FGF-19 (pg/ml) | GDM+ | 182.2 (101.3-309.3) | 210.1 (104.6-360.0) | 193.1 (105.1-250.4) |
| | GDM- | 216.4 (131.7-350.5) | 192.0 (139.6-289.3) | 205.5 (87.4-302.0) |

GDM = gestační diabetes mellitus; BMI = body mass index; STK = systolický tlak krve; DTK = diastolický tlak krve; FPG = fasting plasma glucose (lačná glykémie); HbA1c = glykovaný hemoglobin; A-FABP = adipocyte fatty acid-binding protein; FGF-19 = fibroblast growth factor-19. Hodnoty vyjádřeny jako medián (25 a 75 percentil). Signifikantní rozdíl ($p < 0.05$) podle Wilcoxon signed-rank test: a = vs. 1. trimestr; b = vs. 2. trimestr; c = vs. 3. trimestr nebo statisticky významný rozdíl podle Mann-Whitney U-test: = těhotné ženy s GDM ($n = 23$) vs. těhotné ženy bez GDM ($n = 29$).

Vztah adipokinů ke klinickým a laboratorním parametrům

U všech těhotných žen ($n = 52$) byla provedena korelační analýza základních údajů. Adiponektin významně inverzně ($p < 0,05$) koreloval s tělesnou hmotností ($\rho = -0,34$), BMI ($\rho = -0,39$), obvodem pasu ($\rho = -0,31$), FPG ($\rho = -0,38$) a HbA1c ($\rho = -0,23$).

A-FABP pozitivně koreloval s tělesnou hmotností ($\rho = 0,55$), BMI ($\rho = 0,52$), obvodem pasu ($\rho = 0,53$), STK ($\rho = 0,17$), FPG ($\rho = 0,46$) a HbA1c ($\rho = 0,42$).

FGF-19 inverzně koreloval s tělesnou hmotností ($\rho = -0,23$), BMI ($\rho = -0,20$), SBP ($\rho = -0,39$) a DTK ($\rho = -0,32$). Významná inverzní korelace byla zjištěna také mezi hladinami adiponektinu a A-FABP ($\rho = -0,18$). FGF-19 nekoreloval ani s adiponektinem, ani s A-FABP.

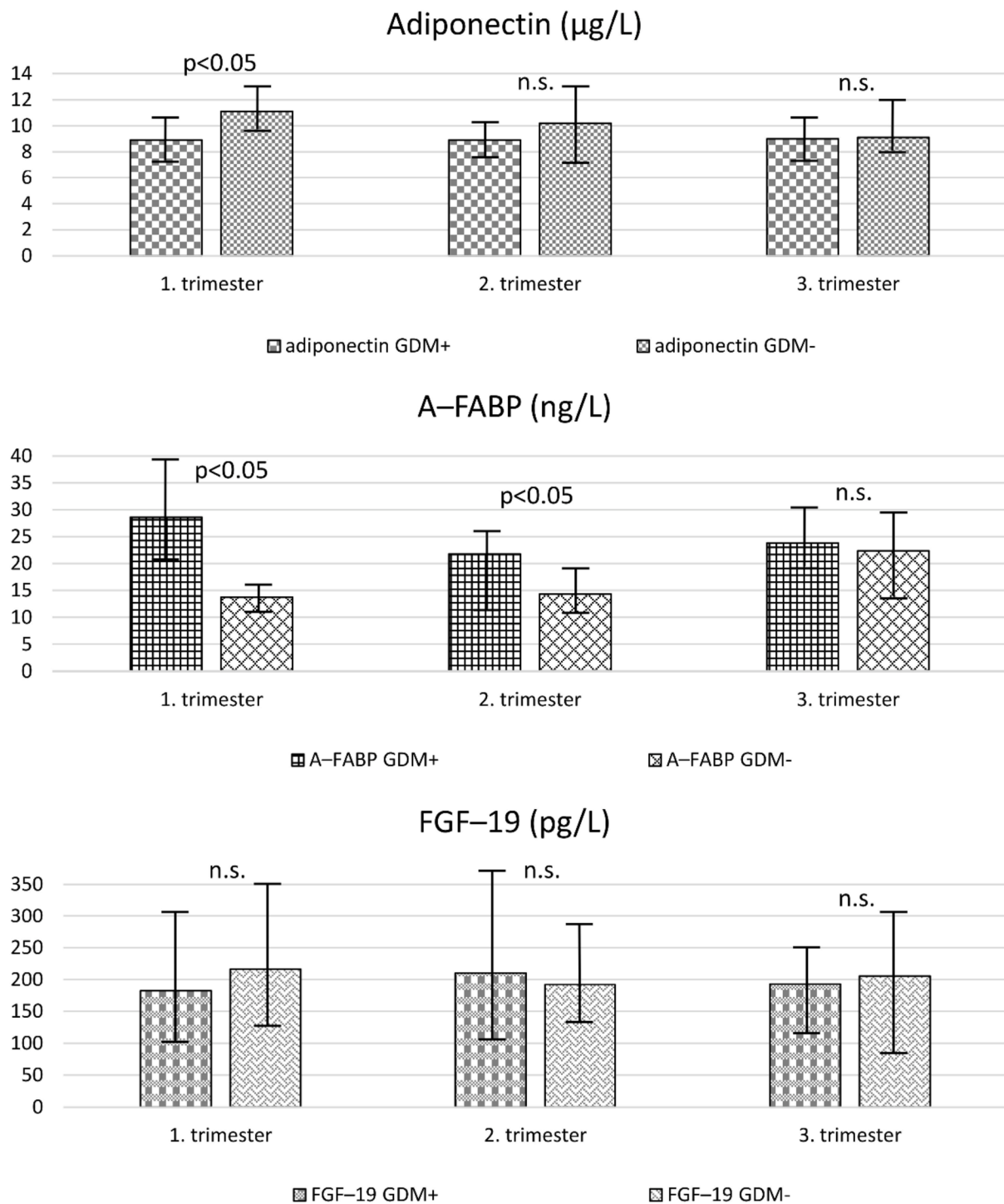
Výsledky multivariační regresní analýzy nezávislých faktorů ovlivňujících adiponektin, A-FABP a FGF-19 jako závislé proměnné na základě údajů ze všech tří trimestrů u všech těhotných žen ($n = 52$) jsou uvedeny v tabulce 11. Adiponektin byl nezávisle spojen s obvodem pasu a HbA1C; A-FABP s hmotností, SBP a glukózou nalačno; a FGF-19 pouze se STK.

Tabulka 11. Multivariační lineární regresní analýza nezávislých faktorů ovlivňujících adiponektin, A-FABP a FGF-19 jako závislé proměnné.

| Adiponectin | | | | | | |
|---------------------------------------------|--------------------------------------|-------|------------------------------------|-------|--------|-------|
| | <i>Nestandardizované koeficienty</i> | | <i>Standardizované koeficienty</i> | | t | Sig. |
| | B | SE | Beta | SE | | |
| Hmotnost | 0.259 | 0.464 | 0.034 | 0.061 | 0.558 | 0.578 |
| BMI | -0.621 | 0.418 | -0.236 | 0.159 | -1.486 | 0.140 |
| Pas | 0.672 | 0.327 | 0.074 | 0.036 | 2.058 | 0.041 |
| FPG | 0.093 | 0.226 | 0.211 | 0.511 | 0.414 | 0.680 |
| HbA1c | 0.530 | 0.257 | 0.175 | 0.085 | 2.065 | 0.046 |
| Adipocyte-fatty acid binding protein | | | | | | |
| | <i>Nestandardizované koeficienty</i> | | <i>Standardizované koeficienty</i> | | t | Sig. |
| | B | SE | Beta | SE | | |
| Hmotnost | 1.056 | 0.497 | 0.313 | 0.148 | 2.124 | 0.035 |
| BMI | 0.168 | 0.447 | 0.144 | 0.382 | 0.377 | 0.707 |
| Pas | -0.191 | 0.370 | -0.047 | 0.091 | -0.515 | 0.607 |
| FPG | 0.760 | 0.246 | 3.860 | 1.251 | 3.087 | 0.002 |
| HbA1c | 0.332 | 0.293 | 0.246 | 0.217 | 1.134 | 0.259 |
| STK | 1.210 | 0.287 | 0.240 | 0.057 | 4.214 | 0.000 |
| Fibroblast growth factor-19 | | | | | | |
| | <i>Nestandardizované koeficienty</i> | | <i>Standardizované koeficienty</i> | | t | Sig. |
| | B | SE | Beta | SE | | |
| Hmotnost | 0.200 | 0.916 | 0.895 | 4.107 | 0.218 | 0.828 |
| BMI | -0.242 | 0.879 | -3.123 | 1.340 | -0.275 | 0.783 |
| STK | 0.722 | 0.753 | 2.157 | 2.250 | 0.959 | 0.039 |
| DTK | -0.015 | 0.666 | -0.072 | 3.146 | -0.023 | 0.982 |

BMI = body mass index; STK = systolický tlak krve; DTK = diastolický tlak krve; FPG = fasting plasma glucose (lačná glykémie); HbA1c = glykovaný hemoglobin.

Obrázek 8. Sérové koncentrace adipokinů v jednotlivých skupinách.



GDM = gestational diabetes mellitus; A-FABP = adipocyte fatty acid-binding protein; FGF-19 = fibroblast growth factor-19. Hodnoty jsou vyjádřeny jako median a mezikvartilový rozptyl.

7.3. Diskuse

Tato studie prokázala, že těhotné ženy s časně diagnostikovaným GDM mají významně snížené koncentrace adiponektinu a zvýšené koncentrace A-FABP ve srovnání s těhotnými ženami bez GDM a netěhotnými zdravými kontrolami. Oba adipokiny korelovaly s viscerální adipozitou a kontrolou glykémie. A-FABP pak inverzně koreluje s adiponektinem. Multivariační regresní analýza ukázala nezávislé asociace mezi adiponektinem a obvodem pasu a HbA1c. A-FABP byla nalezena asociace s hmotností, STK a hladinou glukózy nalačno. Jak je z výsledků dále patrné, zavedení časně intervence v oblasti životního stylu (dieta, fyzická aktivita) bylo spojeno s posunem cirkulujících koncentrací těchto adipokinů na hodnoty srovnatelné s hodnotami u zdravých těhotných žen.

V předchozích studiích bylo zjištěno, že hladina adiponektinu je u žen s GDM nižší. Sníženou hladinu adiponektinu lze navíc v časném těhotenství považovat za prediktivní marker pro rozvoj GDM [73,74]. Metaanalýza zahrnující 2865 těhotných žen ukázala, že měření cirkulujícího adiponektinu před otěhotněním a na počátku těhotenství může vést k identifikaci žen s vysokým rizikem rozvoje GDM [75]. Koncentrace adiponektinu v prvním trimestru měly v této analýze souhrnnou senzitivitu 60,3 %, specificitu 81,3 % a diagnostický poměr šancí 6,6 pro predikci GDM. Na druhou stranu však najdeme i studie s odlišnými závěry. Například Ebert et al. uvádějí, že koncentrace adiponektinu jsou u těhotných žen ve srovnání s netěhotnými nižší. Navíc pak nejsou ovlivněny diagnózou GDM [76]. Rozpory mezi studiemi mohou být způsobeny různými diagnostickými kritérii GDM, charakteristikami studované populace, počtem těhotenství a také intenzitou léčebných opatření. Z pohledu patofyziologického se předpokládá, že se snížená exprese adiponektinu v těhotenství podílí na zvýšení inzulínové rezistence, což následně vede ke sníženému vychytávání glukózy v cílových tkáních. V případě GDM není dysfunkce pankreatických buněk schopna překonat inzulínovou rezistenci, vedoucí k hyperglykémii [77]. Nezávislá asociace mezi adiponektinem a HbA1c v naší studii zdůrazňuje možnou roli adiponektinu v kontrole glykémie. Tato studie také ukazuje, že včasné zavedení intervencí v oblasti životního stylu nejen zmírnilo přírůstek hmotnosti, ale také zabránilo dalšímu poklesu hladin adiponektinu během těhotenství u žen s GDM a posunulo ve třetím trimestru koncentrace adiponektinu na hodnoty podobné těm, které byly pozorovány u zdravých těhotných žen.

Několik studií zjistilo významně zvýšenou hladinu A-FABP u žen s GDM [78,79]. Obdobně jako u adiponektinu, tak i zde může být změna v hladinách A-FABP spojena s rizikem vzniku GDM. Na rozdíl od adiponektinu je však toto riziko spojeno se zvýšením hladiny A-FABP [80,81]. Zhang et al. zaznamenali u pacientek s GDM trend ke zvyšování hladin A-FABP ve druhém až třetím trimestru [78]. V naší studii jsme tuto tendenci pozorovali také u zdravých těhotných žen. Za normálních okolností je A-FABP produkován adipocyty. V období těhotenství se však může uvolňovat také z placenty [82]. Cirkulující hladiny A-FABP jsou spojeny s lipolýzou a během těhotenství stoupají v důsledku inzulínové rezistence. Nadměrná exprese A-FABP v placentě a decidue u GDM je stimulována působením placentárního laktogenu, progesteronu a synergickým účinkem estrogenu a progesteronu, jejichž hladiny jsou trvale zvýšené až do porodu [83]. Včasně zavedení intervencí v oblasti životního stylu a vhodná léčba GDM byly v naší studii spojeny se snížením A-FABP. Ve třetím trimestru tedy nebyly mezi zdravými těhotnými ženami a pacientkami s GDM žádné významné rozdíly. Nezávislé asociace mezi A-FABP a hmotností, glykemií nalačno a STK opět poukazují na možnou roli inzulínové rezistence při rozvoji GDM a jeho komplikací. A-FABP přispívá nejen ke zhoršené kontrole glykémie, ale také k rozvoji gestační hypertenze a preeklampsie [84]. Včasná diagnostika a léčba GDM jsou proto důležité i pro prevenci těchto komplikací.

Na rozdíl od některých předchozích studií jsme nezjistili žádné významné rozdíly v FGF-19 u žen s GDM a zdravých těhotných žen v průběhu celého těhotenství. Wang et al. zaznamenali snížené hladiny FGF-19 v cirkulaci u žen s GDM diagnostikovaných mezi 24. a 28. týdnem těhotenství [85]. U žen s GDM byla po porodu rovněž zjištěna snížená placentární a svalová exprese FGF-19 [86]. Naproti tomu nedávná studie zjistila plazmatické koncentrace FGF-19 v pupečníku podobné jako u zdravých těhotných kontrol, což naznačuje, že GDM neovlivňuje hladiny FGF-19 u plodu [87]. Wang et al. rovněž prokázali nezávislou a inverzní asociaci mezi FGF-19 a inzulínovou rezistencí u GDM [85]. V naší studii FGF-19 inverzně koreloval s tělesnou hmotností, BMI, STK a DTK. Po provedení multivariační regresní analýzy však byl nezávisle spojen pouze se STK. Předpokládáme, že intervence v oblasti životního stylu, zavedené u žen s časně diagnostikovaným GDM s cílem zabránit nárůstu hmotnosti a zvýšené inzulínové rezistenci, mohly zabránit významnému snížení hladin FGF-19 ve druhém a třetím trimestru. To může vysvětlovat, proč nebyly v průběhu těhotenství zjištěny žádné rozdíly mezi ženami s GDM a zdravými těhotnými ženami. Toto zjištění také podporuje

korelace FGF-19 s tělesnou hmotností a BMI. Nezávislá asociace mezi FGF-19 a STK tak může naznačovat roli FGF-19 v gestační hypertenzi, ale tento potenciální vztah je třeba objasnit v dalších studiích.

Jedním z omezení této studie je zaměření pouze na skupinu žen s časně diagnostikovaným GDM. Samozřejmě existují ženy s normální hladinou glukózy během prvního trimestru, u nichž je GDM diagnostikován až při oGTT mezi 24. a 28. týdnem těhotenství. Jedná se o většinu případů GDM. Vzhledem k tomu, že různé projevy GDM mohou vycházet z různých patofyziologických mechanismů (inzulinová rezistence versus porucha sekrece inzulinu), může se u různých fenotypů GDM lišit i produkce adipokinů. Všechny ženy s GDM v naší studii byly časně intervenovány, což mohlo ovlivnit přirozený průběh změn hladin adipokinů. Kromě toho byla přibližně třetina žen ve skupině GDM léčena inzulinem, což potenciálně modifikovalo produkci sledovaných adipokinů. V neposlední řadě studie nezahrnovala kontrolní skupinu žen s GDM, které nepodstoupily terapeutickou intervenci, proto je závěr o účinku intervence poměrně omezený. Silnou stránkou této studie je její prospektivní charakter a longitudinální sledování hladin adipokinů, včetně možného vlivu časně terapeutické intervence.

7.4. Závěr

Ženy s časně diagnostikovaným GDM vykazovaly změněnou produkci adipokinů již v prvním trimestru těhotenství. Měly zvýšené hladiny A-FABP a snížené hladiny adiponektinu, které korelovaly s viscerální adipozitou a kontrolou glykemie (HbA1c). Včasná diagnóza GDM vyžadující zavedení intervencí v oblasti životního stylu a včasná léčba inzulinem byla spojena nejen s prevencí přírůstkem hmotnosti, ale také s normalizací adipokinů na hladiny podobné těm u těhotných žen bez GDM. Tato zjištění podporují význam screeningu GDM v časných stádiích těhotenství a možnou roli endokrinní dysfunkce tukové tkáně při vzniku GDM.

8. Souhrn výsledků experimentální části

1. Diagnóza GDM, stanovená zvýšenou lačnou glykemií (FPG $\geq 5,1$ mmol/l) v časně fázi těhotenství, je spojena s vyšší tělesnou hmotností a BMI žen na počátku těhotenství, dále je spojena se zvýšeným rizikem léčby inzulinem a vyšší porodní hmotností plodu.
2. U žen s časně diagnostikovaným GDM (FPG $\geq 5,1$ mmol/l) nebyl prokázán častější výskyt novorozeneckých komplikací.
3. Ženy s časně diagnostikovaným GDM (FPG $\geq 5,1$ mmol/l) nevykazovaly v I. trimestru těhotenství změněnou sekreci inkretinových hormonů (GLP-1, GIP) nalačno ani po zátěži stravou. Měly však sníženou funkci β -buněk. Porucha sekrece inkretinových hormonů nehraje v této fázi těhotenství významnou roli v rozvoji GDM.
4. Ženy s časně diagnostikovaným GDM (FPG $\geq 5,1$ mmol/l) vykazovaly v I. trimestru těhotenství změněnou produkci adipokinů. Měly zvýšené hladiny A-FABP a snížené hladiny adiponektinu, které korelovaly s viscerální adipozitou a kontrolou glykémie (HbA1c). Časným zavedením intervencí v oblasti životního stylu a léčby inzulinem navíc došlo v dalším průběhu těhotenství k normalizaci adipokinů na hladiny podobné těm u těhotných žen bez GDM.

SEZNAM ZKRATEK

| | |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| A-FABP | adipocytární protein vázající mastné kyseliny (<i>adipocyte fatty acid-binding protein</i>) |
| AUC | plocha pod křivkou (<i>area under curve</i>) |
| BMI | body mass index |
| DM | diabetes mellitus |
| DPP-4 | dipeptidyl peptidáza 4 (<i>dipeptidyl peptidase 4</i>) |
| DTK | diastolický krevní tlak |
| FGF 19 | fibroblastový růstový faktor 19 (<i>fibroblast growth factor 19</i>) |
| FGF 21 | fibroblastový růstový faktor 21 (<i>fibroblast growth factor 21</i>) |
| FPG | lačná glykémie (<i>fasting plasma glucose</i>) |
| GDM | gestační diabetes mellitus |
| GIP | glukózo-dependentní inzulinotropní polypeptid (<i>glucose-dependent insulinotropic polypeptide</i>) |
| GIT | gastrointestinální trakt |
| GLP-1 | glukagonu podobný peptid 1 (<i>glucagon-like peptide 1</i>) |
| GLP-1RA | agonisté receptorů pro GLP-1 (<i>glucagon-like peptide 1 receptor agonists</i>) |
| GTT | glukózový toleranční test |
| HbA1c | glykovaný hemoglobin |
| HOMA | <i>homeostatic model assessment</i> |
| IADPSG | <i>International Association of the Diabetes and Pregnancy Study Groups</i> |
| IL-6 | interleukin 6 |
| MMTT | toleranční test s mixovaným jídlem (<i>mixed meal tolerance test</i>) |
| MODY | monogenní diabetes (<i>maturity onset diabetes of the young</i>) |
| oGTT | orální glukózový toleranční test |
| PAI-1 | inhibitor aktivátoru plazminogenu typ 1 (<i>plasminogen activator inhibitor-1</i>) |
| PPG | glykémie po jídle (<i>postprandial plasma glucose</i>) |
| QUICKI | quantitative insulin sensitivity check index |
| STK | systolický krevní tlak |
| TNF-alfa | tumor nekrotizující faktor alfa (<i>tumor necrosis factor alfa</i>) |

LITERATURA

1. Mestman JH. Historical Notes on Diabetes and Pregnancy. *Endocrinol.* 2002;12(3):224–42.
2. Duncan JM. On puerperal diabetes. *Trans Obstet Soc Lond.* 1882; 24:256.
3. Williams JW. The clinical significance of glycosuria in pregnant women. *Am J Med Sci.* 1909; 137:1–26.
4. Lambie CG. Diabetes and pregnancy. *J Obstet Gynecol Br Emp.* 1926; 33:563–606.
5. Wilder RM, Parsons E. Treatment of diabetes during pregnancy. *Colorado Med.* 1928; 25:372.
6. Skipper E. Diabetes mellitus in pregnancy: A clinical and analytical study. *QJM.* 1933; 7:353–380.
7. White P. Pregnancy complicating diabetes. *Am J Med.* 1949;609–616.
8. Kitzmiller JL. Sweet Success With Diabetes: The development of insulin therapy and glycemic control for pregnancy. *Diabetes Care.* 1993;16(Supplement_3):107–21.
9. Pedersen J, Brandstrup E. Fetal mortality in pregnant diabetics. 1956; 27:607–610.
10. White P. Pregnancy and Diabetes, medical aspects. *Med Clin North Am.* 1965; 49:1015–1024.
11. Jovanovic L, Druzin M, Peterson CM. Effect of euglycemia on the outcome of pregnancy in insulin-dependent diabetic women as compared with normal control subjects. *Am J Medicine.* 1981;71(6):921–7.

12. Landon MB, Gabbe SG, Piana R, Mennuti MT, Main EK. Neonatal morbidity in pregnancy complicated by diabetes mellitus: Predictive value of maternal glyceic profiles. *Am J Obstet Gynecol.* 1987;156(5):1089–95.
13. Allen E. The glycosurias or pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1935; 38:982–992.
14. Miller HC. The effect of the prediabetic state on the survival of the fetus and the birth weight of the newborn infant. *N Engl J Med.* 1945; 235:376–378.
15. Herzstein J, Dolger H. The fetal mortality in women during the prediabetic period. *Am J Obstet Gynecol.* 1946; 51:420–422.
16. Carrington ER, Shuman CR, Reardon HS. Evaluation of the prediabetic state during pregnancy. *Obstet Gynecol.* 1957; 9:664–669.
17. O’Sullivan JB. Gestational diabetes. *N Engl J Med.* 1961; 264:1082–1085.
18. O’Sullivan JB, Mahan CB. Criteria for the oral glucose tolerance test in pregnancy. *Diabetes.* 1964; 13:278.
19. Group HSCR, Metzger BE, Lowe LP, Dyer AR, Trimble ER, Chaovarindr U, Coustan DR, Hadden DR, McCance DR, Hod M, McIntyre HD, Oats JJN, Persson B, Rogers MS, Sacks DA. Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes. *New Engl J Med.* 2008;358(19):1991–2002.
20. Coustan DR, Lowe LP, Metzger BE, Dyer AR. The Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome (HAPO) study: paving the way for new diagnostic criteria for gestational diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;202(6): 654.e1-6.
21. Panel IA of D and PSGC, Metzger BE, Gabbe SG, Persson B, Buchanan TA, Catalano PA, Damm P, Dyer AR, Leiva A de, Hod M, Kitzmiller JL, Lowe LP, McIntyre HD, Oats JJN, Omori Y, Schmidt MI. International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. *Diabetes Care.* 2010;33(3):676–82.

22. Corrado F, D'Anna R, Cannata ML, Interdonato ML, Pintaudi B, Benedetto AD. Correspondence between first-trimester fasting glycaemia, and oral glucose tolerance test in gestational diabetes diagnosis. *Diabetes Metab.* 2012;38(5):458–61.
23. Zhu W wei, Yang H xia, Wei Y mei, Yan J, Wang Z lian, Li X lan, Wu H rong, Li N, Zhang M hua, Liu X hui, Zhang H, Wang Y hui, Niu J min, Gan Y jie, Zhong L ruo, Wang Y feng, Kapur A. Evaluation of the Value of Fasting Plasma Glucose in the First Prenatal Visit to Diagnose Gestational Diabetes Mellitus in China. *Diabetes Care.* 2013;36(3):586–90.
24. Diagnostic criteria and classification of hyperglycaemia first detected in pregnancy: A World Health Organization Guideline. *Diabetes Res Clin Pr.* 2014;103(3):341–63.
25. Clausen TD, Mathiesen ER, Hansen T, Pedersen O, Jensen DM, Lauenborg J, Damm P. High Prevalence of Type 2 Diabetes and Pre-Diabetes in Adult Offspring of Women With Gestational Diabetes Mellitus or Type 1 Diabetes: The role of intrauterine hyperglycemia. *Diabetes Care.* 2007;31(2):340–6.
26. Daly B, Toulis KA, Thomas N, Gokhale K, Martin J, Webber J, Keerthy D, Jolly K, Saravanan P, Nirantharakumar K. Increased risk of ischemic heart disease, hypertension, and type 2 diabetes in women with previous gestational diabetes mellitus, a target group in general practice for preventive interventions: A population-based cohort study. *PLOS Medicine.* 2018;15(1): e1002488.
27. GESTAC NÍ DIABETES MELLITUS Doporuč ený postup screeningu, gynekologické, perinatologické, diabetologické a neonatologické péč e 2017 [internet]. [cited 2023 Jun 1]. Available from: https://www.diab.cz/dokumenty/DP_GDM_2017.pdf
28. Catalano PM, Roman-Drago NM, Amini SB, Sims EAH. Longitudinal changes in body composition and energy balance in lean women with normal and abnormal glucose tolerance during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;179(1):156–65.
29. Cianni GD, Miccoli R, Volpe L, Lencioni C, Prato SD. Intermediate metabolism in normal pregnancy and in gestational diabetes. *Diabetes Metabolism Res Rev.* 2003;19(4):259–70.

30. Chiefari E, Arcidiacono B, Foti D, Brunetti A. Gestational diabetes mellitus: an updated overview. *J Endocrinol Invest*. 2017;40(9):899–909.
31. Powe CE, Allard C, Battista MC, Doyon M, Bouchard L, Ecker JL, Perron P, Florez JC, Thadhani R, Hivert MF. Heterogeneous Contribution of Insulin Sensitivity and Secretion Defects to Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2016;39(6):1052–5.
32. Nauck M, Stöckmann F, Ebert R, Creutzfeldt W. Reduced incretin effect in Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia*. 1986;29(1):46–52.
33. Nauck MA, Meier JJ. Incretin hormones: Their role in health and disease. *Diabetes Obes Metabolism*. 2018; 20:5–21.
34. Vilsbøll T, Krarup T, Madsbad S, Holst J. Defective amplification of the late phase insulin response to glucose by GIP in obese Type II diabetic patients. *Diabetologia*. 2002;45(8):1111–9.
35. Nauck MA, Bartels E, Orskov C, Ebert R, Creutzfeldt W. Additive insulinotropic effects of exogenous synthetic human gastric inhibitory polypeptide and glucagon-like peptide-1-(7-36) amide infused at near-physiological insulinotropic hormone and glucose concentrations. *J Clin Endocrinol Metabolism*. 1993;76(4):912–7.
36. Toft-Nielsen MB, Damholt MB, Madsbad S, Hilsted LM, Hughes TE, Michelsen BK, Holst JJ. Determinants of the Impaired Secretion of Glucagon-Like Peptide-1 in Type 2 Diabetic Patients. *J Clin Endocrinol Metabolism*. 2001;86(8):3717–23.
37. Vilsbøll T, Krarup T, Deacon CF, Madsbad S, Holst JJ. Reduced Postprandial Concentrations of Intact Biologically Active Glucagon-Like Peptide 1 in Type 2 Diabetic Patients. *Diabetes*. 2001;50(3):609–13.
38. Marso SP, Daniels GH, Brown-Frandsen K, Kristensen P, Mann JFE, Nauck MA, Nissen SE, Pocock S, Poulter NR, Ravn LS, Steinberg WM, Stockner M, Zinman B, Bergenstal RM, Buse JB. Liraglutide and Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *New Engl J Medicine*. 2016;375(4):311–22.

39. Lehr S, Hartwig S, Sell H. Adipokines: A treasure trove for the discovery of biomarkers for metabolic disorders. *Proteom Clin Appl*. 2012;6(1-2):91–101.
40. Blüher M, Mantzoros CS. From leptin to other adipokines in health and disease: Facts and expectations at the beginning of the 21st century. *Metabolis*. 2015;64(1):131–45.
41. Fasshauer M, Blüher M. Adipokines in health and disease. *Trends Pharmacol Sci*. 2015;36(7):461–70.
42. Yanai H, Yoshida H. Beneficial Effects of Adiponectin on Glucose and Lipid Metabolism and Atherosclerotic Progression: Mechanisms and Perspectives. *Int J Mol Sci*. 2019;20(5):1190.
43. Spranger J, Kroke A, Möhlig M, Bergmann MM, Ristow M, Boeing H, Pfeiffer AF. Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. *Lancet*. 2003;361(9353):226–8.
44. Furuhashi M. Fatty Acid-Binding Protein 4 in Cardiovascular and Metabolic Diseases. *J Atheroscler Thromb*. 2019;26(3):216–32.
45. Fuseya T, Furuhashi M, Yuda S, Muranaka A, Kawamukai M, Mita T, Ishimura S, Watanabe Y, Hoshina K, Tanaka M, Ohno K, Akasaka H, Ohnishi H, Yoshida H, Saitoh S, Shimamoto K, Miura T. Elevation of circulating fatty acid-binding protein 4 is independently associated with left ventricular diastolic dysfunction in a general population. *Cardiovasc Diabetol*. 2014;13(1):126.
46. Xu A, Tso AWK, Cheung BMY, Wang Y, Wat N, Fong CHY, Yeung DCY, Janus ED, Sham PC, Lam KSL. Circulating Adipocyte–Fatty Acid Binding Protein Levels Predict the Development of the Metabolic Syndrome. *Circulation*. 2007;115(12):1537–43.
47. Ota H, Furuhashi M, Ishimura S, Koyama M, Okazaki Y, Mita T, Fuseya T, Yamashita T, Tanaka M, Yoshida H, Shimamoto K, Miura T. Elevation of Fatty Acid-Binding Protein 4 Is Predisposed by Family History of Hypertension and Contributes to Blood Pressure Elevation. *Am J Hypertens*. 2012;25(10):1124–30.

48. Xu A, Wang Y, Xu JY, Stejskal D, Tam S, Zhang J, Wat NM, Wong WK, Lam KS. Adipocyte Fatty Acid-Binding Protein Is a Plasma Biomarker Closely Associated with Obesity and Metabolic Syndrome. *Clin Chem*. 2006;52(3):405–13.
49. Jones S. Mini-Review: Endocrine Actions of Fibroblast Growth Factor 19. *Mol Pharmaceut*. 2008;5(1):42–8.
50. Perez MJ, Briz O. Bile-acid-induced cell injury and protection. *World J Gastroentero*. 2009;15(14):1677–89.
51. Kir S, Beddow SA, Samuel VT, Miller P, Previs SF, Suino-Powell K, Xu HE, Shulman GI, Kliewer SA, Mangelsdorf DJ. FGF19 as a Postprandial, Insulin-Independent Activator of Hepatic Protein and Glycogen Synthesis. *Science*. 2011;331(6024):1621–4.
52. Fu L, John LM, Adams SH, Yu XX, Tomlinson E, Renz M, Williams PM, Soriano R, Corpuz R, Moffat B, Vandlen R, Simmons L, Foster J, Stephan JP, Tsai SP, Stewart TA. Fibroblast Growth Factor 19 Increases Metabolic Rate and Reverses Dietary and Leptin-Deficient Diabetes. *Endocrinology*. 2004;145(6):2594–603.
53. Simmons D. Paradigm Shifts in the Management of Diabetes in Pregnancy: The Importance of Type 2 Diabetes and Early Hyperglycemia in Pregnancy. *Diabetes Care*. 2020;44(5):1075–81.
54. Immanuel J, Simmons D, Harreiter J, Desoye G, Corcoy R, Adelantado JM, Devlieger R, Lapolla A, Dalfrà MG, Bertolotto A, Wender-Ozegowska E, Zawiejska A, Dunne FP, Damm P, Mathiesen ER, Jensen DM, Andersen LLT, Hill DJ, Jelsma JGM, Kautzky-Willer A, Galjaard S, Snoek FJ, Poppel MNM van. Metabolic phenotypes of early gestational diabetes mellitus and their association with adverse pregnancy outcomes. *Diabetic Medicine*. 2020;
55. Harreiter J, Simmons D, Desoye G, Corcoy R, Adelantado JM, Devlieger R, Assche A van, Galjaard S, Damm P, Mathiesen ER, Jensen DM, Andersen LLT, Dunne F, Lapolla A, Dalfrà MG, Bertolotto A, Mantaj U, Wender-Ozegowska E, Zawiejska A, Hill D, Jelsma JGM, Snoek FJ, Worda C, Bancher-Todesca D, Poppel MNM van, Kautzky-Willer A. IADPSG and

WHO 2013 Gestational Diabetes Mellitus Criteria Identify Obese Women With Marked Insulin Resistance in Early Pregnancy. *Diabetes Care*. 2016;39(7): e90–2.

56. Immanuel J, Simmons D. Screening and Treatment for Early-Onset Gestational Diabetes Mellitus: a Systematic Review and Meta-analysis. *Curr Diabetes Rep*. 2017;17(11):115.

57. Maher JE, Goldenberg RL, Tamura T, Cliver SP, Hoffman HJ, Davis RO, Boots L. Albumin levels in pregnancy: a hypothesis—decreased levels of albumin are related to increased levels of alpha-fetoprotein. *Early Hum Dev*. 1993;34(3):209–15.

58. Zawiejska A, Wender-Ozegowska E, Radzicka S, Brazert J. Maternal hyperglycemia according to IADPSG criteria as a predictor of perinatal complications in women with gestational diabetes: a retrospective observational study. *J Maternal-fetal Neonatal Medicine*. 2014;27(15):1526–30.

59. Nikolic D, Al-Rasadi K, Busaidi NA, Al-Waili K, Banerjee Y, Al-Hashmi K, Montalto G, Rizvi AA, Rizzo M, Al-Dughhaishi T. Incretins, Pregnancy, and Gestational Diabetes. *Curr Pharm Biotechnol*. 2016;17(7):597–602.

60. Sukumar N, Bagias C, Goljan I, Weldeselassie Y, Gharanei S, Tan BK, Holst JJ, Saravanan P. Reduced GLP-1 Secretion at 30 Minutes After a 75-g Oral Glucose Load Is Observed in Gestational Diabetes Mellitus: A Prospective Cohort Study. *Diabetes*. 2018;67(12):2650–6.

61. Cypryk K, Vilsbøll T, Nadel I, Smyczyńska J, Holst JJ, Lewiński A. Normal secretion of the incretin hormones glucose-dependent insulinotropic polypeptide and glucagon-like peptide-1 during gestational diabetes mellitus. *Gynecol Endocrinol*. 2007;23(1):58–62.

62. Lencioni C, Resi V, Romero F, Lupi R, Volpe L, Bertolotto A, Ghio A, Prato SD, Marchetti P, Cianni GD. Glucagon-like peptide-1 secretion in women with gestational diabetes mellitus during and after pregnancy. *J Endocrinol Invest*. 2011;34(9): e287–90.

63. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412–9.

64. Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follmann DA, Sullivan G, Quon MJ. Quantitative Insulin Sensitivity Check Index: A Simple, Accurate Method for Assessing Insulin Sensitivity In Humans. *J Clin Endocrinol Metabolism*. 2000;85(7):2402–10.
65. Bonde L, Vilsbøll T, Nielsen T, Bagger JI, Svare JA, Holst JJ, Larsen S, Knop FK. Reduced postprandial GLP-1 responses in women with gestational diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metabolism*. 2013;15(8):713–20.
66. Mosavat M, Omar SZ, Jamalpour S, Tan PC. Serum Glucose-Dependent Insulinotropic Polypeptide (GIP) and Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1) in association with the Risk of Gestational Diabetes: A Prospective Case-Control Study. *J Diabetes Res*. 2020; 2020:9072492.
67. Fritsche L, Heni M, Eckstein SS, Hummel J, Schürmann A, Häring HU, Preißl H, Birkenfeld AL, Peter A, Fritsche A, Wagner R. Incretin Hypersecretion in Gestational Diabetes Mellitus. *J Clin Endocrinol Metabolism*. 2022;107(6): e2425–30.
68. Holst JJ, Christensen M, Lund A, Heer J de, Svendsen B, Kielgast U, Knop FK. Regulation of glucagon secretion by incretins. *Diabetes Obes Metabolism*. 2011; 13:89–94.
69. Horie I, Haraguchi A, Ito A, Nozaki A, Natsuda S, Akazawa S, Mori Y, Ando T, Higashijima A, Hasegawa Y, Yoshida A, Miura K, Masuzaki H, Kawakami A, Abiru N. Impaired early-phase suppression of glucagon secretion after glucose load is associated with insulin requirement during pregnancy in gestational diabetes. *J Diabetes Invest*. 2020;11(1):232–40.
70. Altemani AH, Alzaheb RA. The prevention of gestational diabetes mellitus (The role of lifestyle): a meta-analysis. *Diabetol Metab Syndr*. 2022;14(1):83.
71. Landon MB, Rice MM, Varner MW, Casey BM, Reddy UM, Wapner RJ, Rouse DJ, Biggio JR, Thorp JM, Chien EK, Saade G, Peaceman AM, Blackwell SC, VanDorsten JP. Mild Gestational Diabetes Mellitus and Long-Term Child Health. *Diabetes Care*. 2015;38(3):445–52.

72. Crowther CA, Hiller JE, Moss JR, McPhee AJ, Jeffries WS, Robinson JS. Effect of Treatment of Gestational Diabetes Mellitus on Pregnancy Outcomes. *New Engl J Med.* 2005;352(24):2477–86.
73. Bao W, Baecker A, Song Y, Kiely M, Liu S, Zhang C. Adipokine levels during the first or early second trimester of pregnancy and subsequent risk of gestational diabetes mellitus: A systematic review. *Metabolis.* 2015;64(6):756–64.
74. Thagaard IN, Krebs L, Holm JC, Lange T, Larsen T, Christiansen M. Adiponectin and leptin as first trimester markers for gestational diabetes mellitus: a cohort study. *Clin Chem Laboratory Medicine Cclm.* 2017;55(11):1805–12.
75. Iliodromiti S, Sassarini J, Kelsey TW, Lindsay RS, Sattar N, Nelson SM. Accuracy of circulating adiponectin for predicting gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Diabetologia.* 2016;59(4):692–9.
76. Ebert T, Gebhardt C, Scholz M, Schleinitz D, Blüher M, Stumvoll M, Kovacs P, Fasshauer M, Tönjes A. Adipocytokines are not associated with gestational diabetes mellitus but with pregnancy status. *Cytokine.* 2020; 131:155088.
77. Pheiffer C, Dias S, Jack B, Malaza N, Adam S. Adiponectin as a Potential Biomarker for Pregnancy Disorders. *Int J Mol Sci.* 2021;22(3):1326.
78. Zhang Y, Zhang H, Lu J, zheng S, Long T, Li Y, Wu W, Wang F. Changes in serum adipocyte fatty acid-binding protein in women with gestational diabetes mellitus and normal pregnant women during mid – and late pregnancy. *J Diabetes Invest.* 2016;7(5):797–804.
79. Kralisch S, Stepan H, Kratzsch J, Verlohren M, Verlohren HJ, Drynda K, Lössner U, Blüher M, Stumvoll M, Fasshauer M. Serum levels of adipocyte fatty acid binding protein are increased in gestational diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol.* 2009;160(1):33–8.
80. Tu WJ, Guo M, Shi XD, Cai Y, Liu Q, Fu CW. First-Trimester Serum Fatty Acid-Binding Protein 4 and Subsequent Gestational Diabetes Mellitus. *Obstetrics Gynecol.* 2017;130(5):1011–6.

81. Jin C, Lin L, Han N, Zhao Z, Xu X, Luo S, Liu J, Wang H. Risk of Gestational Diabetes Mellitus in relation to Plasma Concentrations of Fatty Acid-Binding Protein 4: A Nested Case-Control Study in China. *J Diabetes Res.* 2021; 2021:6681432.
82. Li L, Lee SJ, Kook SY, Ahn TG, Lee JY, Hwang JY. Serum from pregnant women with gestational diabetes mellitus increases the expression of FABP4 mRNA in primary subcutaneous human pre-adipocytes. *Obstetrics Gynecol Sci.* 2017;60(3):274–82.
83. Sun J, Zhang D, Xu J, Chen C, Deng D, Pan F, Dong L, Li S, Ye S. Circulating FABP4, nesfatin-1, and osteocalcin concentrations in women with gestational diabetes mellitus: a meta-analysis. *Lipids Health Dis.* 2020;19(1):199.
84. Daskalakis G, Bellos I, Nikolakea M, Pergialiotis V, Papapanagiotou A, Loutradis D. The role of serum adipokine levels in preeclampsia: A systematic review. *Metabolis.* 2020; 106:154172.
85. Wang D, Zhu W, Li J, An C, Wang Z. Serum Concentrations of Fibroblast Growth Factors 19 and 21 in Women with Gestational Diabetes Mellitus: Association with Insulin Resistance, Adiponectin, and Polycystic Ovary Syndrome History. *Plos One.* 2013;8(11): e81190.
86. Wang D, Xu S, Ding W, Zhu C, Deng S, Qiu X, Wang Z. Decreased placental and muscular expression of the fibroblast growth factor 19 in gestational diabetes mellitus. *J Diabetes Invest.* 2019;10(1):171–81.
87. Yang MN, Huang R, Liu X, Xu YJ, Wang WJ, He H, Zhang GH, Zheng T, Fang F, Fan JG, Li F, Zhang J, Li J, Ouyang F, Luo ZC. Fibroblast Growth Factor 19 in Gestational Diabetes Mellitus and Fetal Growth. *Front Endocrinol.* 2022; 12:805722.

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1. Vývoj mateřské a perinatální mortality po objevu inzulinu.

Obrázek 2. Inkretinový efekt.

Obrázek 3. Inkretinový efekt u osob s DM 2. typu.

Obrázek 4. Biologicky aktivní látky produkované tukovou tkání.

Obrázek 5. Rozdělení studovaného souboru do skupin podle stanovení diagnózy GDM.

Obrázek 6. Vývojový diagram studie.

Obrázek 7. Změny v hladinách glukózy a vybraných hormonů během 3hodinového MMTT.

Obrázek 8. Sérové koncentrace adipokinů v jednotlivých skupinách.

SEZNAM TABULEK

- Tabulka 1. Diagnostické hodnoty GDM v průběhu oGTT mezi 24. a 28. týdnem těhotenství podle doporučení IADPSG.
- Tabulka 2. Cílové hodnoty glykémie při léčbě GDM.
- Tabulka 3. Rozdělení žen do skupin podle způsobu stanovení diagnózy gestačního diabetu.
- Tabulka 4. Základní charakteristika souboru. Antropometrická a laboratorní analýza v době stanovení diagnózy.
- Tabulka 5. Vývoj tělesné hmotnosti, nutnost léčby a výskyt novorozeneckých komplikací.
- Tabulka 6. Základní klinická a laboratorní charakteristika jednotlivých skupin.
- Tabulka 7. Plocha pod křivkou (AUC) pro glukózu a inkretinové hormony během 3hodinového MMTT u jednotlivých skupin.
- Tabulka 8. Korelace mezi základními parametry a inkretinovými hormony.
- Tabulka 9. Základní a klinické parametry v jednotlivých skupinách.
- Tabulka 10. Změny klinických parametrů, adipokinů a kontroly glykémie v průběhu těhotenství u žen s diagnózou a bez diagnózy GDM.
- Tabulka 11. Multivariační lineární regresní analýza nezávislých faktorů ovlivňujících adiponektin, A-FABP a FGF-19 jako závislé proměnné.

PŘÍLOHY

9. Seznam publikací přímo souvisejících s tématem disertační práce

1. Krystynik O, Macakova D, Cibickova L, Karasek D. Fasting Plasma Glucose and Its Relationship to Anthropometric Phenotype in Women Diagnosed with Gestational Diabetes According to IADPSG Criteria. *Life (Basel)*. 2023;13(1):137. Published 2023 Jan 4. doi:10.3390/life13010137
2. Krystynik O, Karasek D, Kahle M, et al. Non-altered incretin secretion in women with impaired fasting plasma glucose in the early stage of pregnancy: a case control study. *Diabetol Metab Syndr*. 2023;15(1):12. Published 2023 Jan 30. doi:10.1186/s13098-023-00981-7
3. Karasek D, Krystynik O, Kucerova V, et al. Adiponectin, A-FABP and FGF-19 Levels in Women with Early Diagnosed Gestational Diabetes. *J Clin Med*. 2022;11(9):2417. Published 2022 Apr 25. doi:10.3390/jcm11092417
4. Krystynik O, Goldmannova D, Schovanek J, Cibickova L, Spurna J, Karasek D. Gestační diabetes a možnosti jeho léčby. *Kardiol Rev Int Med*. 2018; 20(3): 208-211.

10. Seznam publikací nepřímo souvisejících s tématem disertační práce

1. Vavreckova M, Galanova N, Kostovcik M, et al. Specific gut bacterial and fungal microbiota pattern in the first half of pregnancy is linked to the development of gestational *diabetes mellitus* in the cohort including obese women. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022; 13:970825. Published 2022 Sep 5. doi:10.3389/fendo.2022.970825

2. Ivanovová E, Pisklákova B, Friedecká J, Krystyník O, Friedecký D, Karásek D. Plasma Short-Chain Fatty Acids and Their Derivatives in Women with Gestational *Diabetes Mellitus*. *Separations*. 2021; 8(10):188. <https://doi.org/10.3390/separations8100188>
3. Cibickova L, Langova K, Schovanek J, Macakova D, Krystynik O, Karasek D. Pregnancy lipid profile and different lipid patterns of gestational diabetes treated by diet itself. *Physiol Res*. 2022;71(2):241-248. doi:10.33549/physiolres.934835
4. Karasek D, Krystynik O, Goldmannova D, Cibickova L, Schovanek J. Circulating levels of selected adipokines in women with gestational diabetes and type 2 diabetes. *J Appl Biomed*. Published online 2020. doi:10.32725/jab.2020.007
5. Schovanek J, Krystynik O, Goldmannova D, Karasek D, Cibickova L. The importance of continuous glucose monitoring in gravidity in patients with gestational diabetes. *Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa*. 2019;22(1):15-21.

11. Seznam ostatních publikací

1. Mačáková D, Plchová M, Cibičková L, Krystyník O, Karásek D, Zadrazil J. Association of Oxidative Stress Markers with Vascular Stiffness Parameters in Patients with Diabetic Neuropathy. *Biomed*. 2021;2(1):1-12. doi:10.3390/biomed2010001
2. Karasek D, Spurna J, Macakova D, Cibickova L, Krystynik O, Kucerova V, et al. Hypertriglyceridemic Waist in Patients with Type 2 Diabetes: Its Relationship to Selected Markers of Vascular Damage. *Metab Syndr Relat D*. 2021;19(7):393-400. doi:10.1089/met.2021.0019
3. Karasek D, Spurna J, Kubickova V, Krystynik O, Cibickova L, Schovanek J, et al. Association of pigment epithelium derived factor with von Willebrand factor and plasminogen activator inhibitor 1 in patients with type 2 diabetes. *Physiol Res*. Published online 2019:409-418. doi:10.33549/physiolres.934013



4. Kubickova V, Karasek D, Spurna J, Krystynik O, Petrova P, Cibickova L. Adipocyte fatty acid-binding protein in patients with type 2 diabetes: Its relationship to vascular damage. *Clin Chim Acta*. 2019;493: S309. doi: 10.1016/j.cca.2019.03.637
5. Spurná J, Karásek D, Kubíčková V, Goldmannová D, Krystyník O, Schovánek J, et al. Relationship of Selected Adipokines with Markers of Vascular Damage in Patients with Type 2 Diabetes. *Metab Syndr Relat D*. 2018;16(5):246-253. doi:10.1089/met.2017.0179
6. Metelka R, Cibičková L, Gajdová J, Krystyník O. Heart rate variability evaluation in the assessment of cardiac autonomic neuropathy in patients with type 2 diabetes. *Cor Vasa*. 2018;60(4): e335-e344. doi: 10.1016/j.cvasa.2017.05.001
7. Goldmannová D, Spurná J, Krystyník O, Schovánek J, Cibičková L, Karásek D, et al. Adipocytokines and new onset diabetes mellitus after transplantation. *J Appl Biomed*. 2018;16(4):247-254. doi: 10.1016/j.jab.2018.05.005
8. Krystynik O. Treatment of hypertension in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa*. 2017;20(4):181-188.
9. Gajdova J, Karasek D, Goldmannova D, Krystynik O, Schovanek J, Vaverkova H, et al. Pulse wave analysis and diabetes mellitus. A systematic review. *Biomed Pap*. 2017;161(3):223-233. doi:10.5507/bp.2017.028
10. Goldmannova D, Karasek D, Krystynik O, Zadrazil J. New-onset diabetes mellitus after renal transplantation. *Biomed Pap*. 2016;160(2):195-200. doi:10.5507/bp.2016.005

12. Kopie originálních prací souvisejících s tématem disertační práce

1. Krystynik, O., Macakova, D., Cibickova, L., Karasek, D., Fasting Plasma Glucose and Its Relationship to Anthropometric Phenotype in Women Diagnosed with Gestational Diabetes According to IADPSG Criteria. *Life*. 2023; 13(1):137.
2. Krystynik O, Karasek D, Kahle M, et al. Non-altered incretin secretion in women with impaired fasting plasma glucose in the early stage of pregnancy: a case control study. *Diabetol Metab Syndr*. 2023;15(1):12.
3. Karasek, D., Krystynik, O., Kucerova, V., Macakova, D., Cibickova, L., Schovaneck, J., Haluzik, M. Adiponectin, A-FABP and FGF-19 Levels in Women with Early Diagnosed Gestational Diabetes. *Journal of Clinical Medicine*. 2022; 11(9):2417.

Article

Fasting Plasma Glucose and Its Relationship to Anthropometric Phenotype in Women Diagnosed with Gestational Diabetes According to IADPSG Criteria

Ondrej Krystynik ^{*}, Dominika Macakova, Lubica Cibickova and David Karasek 

Third Department of Internal Medicine—Nephrology, Rheumatology and Endocrinology, University Hospital Olomouc and Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University Olomouc, 77900 Olomouc, Czech Republic
* Correspondence: ondrej.krystynik@fnol.cz

Abstract: Background: Gestational diabetes mellitus (GDM) is characterized by new-onset hyperglycemia in pregnancy. According to the International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG) recommendations, GDM may be diagnosed based on repeatedly increased fasting glucose levels in the first trimester, or later, the detection of increased fasting glucose and/or increased glucose levels during a 75 g oral glucose tolerance test (OGTT). The study aimed to assess whether differences may be found between women diagnosed with GDM by fasting glucose or glucose challenge tests in early or late pregnancy. Methods: The retrospective observational study enrolled 418 women diagnosed with GDM in accordance with the IADPSG criteria: early pregnancy fasting plasma glucose (FPG) ≥ 5.1 mmol/L; late pregnancy FPG ≥ 5.1 mmol/L (0 min) and/or postprandial plasma glucose (PPG) ≥ 10.0 mmol/L (60 min), PPG ≥ 8.5 mmol/L (120 min) 75 g OGTT. The analyses included anthropometric parameters at the beginning and during pregnancy, laboratory values of glycated hemoglobin, fructosamine, birth weight measures and the presence of neonatal complications. Results: There were significant differences in body weight (78.3 ± 19.1 ; 74.0 ± 16.7 ; 67.2 ± 15.7 kg) and body mass index (BMI) (27.9 ± 6.6 ; 26.4 ± 5.8 ; 24.4 ± 5.2 kg/m²) in early pregnancy. Differences were also found in gestational weight gain (9.3 ± 6.8 vs. 12.4 ± 6.9 vs. 11.1 ± 4.7 kg) and the need for insulin therapy (14.7%; 7.1%; 4.0%). The study revealed no difference in the presence of neonatal complications but differences in birth weight (3372.2 ± 552.2 vs. 3415.6 ± 529.0 vs. 3199.0 ± 560.5 g). Conclusions: Gestational diabetes, characterized by FPG ≥ 5.1 mmol/L in early pregnancy, is associated with higher body weight and BMI at the beginning of pregnancy as well as with a higher risk for insulin therapy and increased birth weight.

Keywords: gestational diabetes; first-trimester fasting glucose; OGTT; gestational weight gain; perinatal outcomes



Citation: Krystynik, O.; Macakova, D.; Cibickova, L.; Karasek, D. Fasting Plasma Glucose and Its Relationship to Anthropometric Phenotype in Women Diagnosed with Gestational Diabetes According to IADPSG Criteria. *Life* **2023**, *13*, 137. <https://doi.org/10.3390/life13010137>

Academic Editors:
Małgorzata Lewandowska,
Stefan Sajdak and
Monika Englert-Golon

Received: 21 November 2022

Revised: 16 December 2022

Accepted: 30 December 2022

Published: 4 January 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Gestational diabetes (GDM) belongs to the group of endocrine disorders characterized by new-onset hyperglycemia first detected during pregnancy [1]. The pathophysiology of GDM is a complex and still not a fully understood issue. However, it appears that an increase in insulin resistance and an inability of beta cells to respond with sufficient insulin secretion are crucial factors for development of GDM in predisposed pregnant women [2]. As insulin resistance physiologically increases in the second half of pregnancy, GDM is most likely to be detected during this period. The condition is associated with a higher risk of pregnancy complications for both mothers and fetuses. It has been shown to increase the risk of metabolic disorders, especially type 2 diabetes mellitus, obesity and arterial hypertension and cardiovascular complications in the later lives of mothers and their babies [3–5].

Screening for and diagnosing GDM have changed considerably over the years. It should be noted that an international consensus has still not been reached in this area.

According to recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy published in 2010 by the International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG), GDM screening should be performed at 24–28 weeks of gestation. For the screening, a 75 g oral glucose tolerance test (OGTT) is recommended. Each diagnostic threshold is associated with a risk of complications at an odds ratio of 1.75, as shown by the HAPO study [3]. Besides the OGTT performed at the specified time of pregnancy, however, fasting glucose levels should be measured as soon after conception as possible, that is in the first trimester. The purpose is to identify apparent, previously unrecognized diabetes and to treat it early. At the same time, however, pregnant women with mild fasting hyperglycemia may also be identified, corresponding to diagnostic thresholds revealed by an OGTT in the second half of pregnancy. Based on these recommendations, these women are monitored in the same way as those diagnosed with GDM later in their pregnancy, although not enough studies have been performed to show the benefit of treating GDM early in pregnancy [6].

Using the same diagnostic thresholds for fasting glucose in early pregnancy and in its second half remains rather controversial. This is mainly because unlike the clearly higher risks of complications from elevated fasting glucose in the second half pregnancy, the association has not been confirmed in early gestation. Moreover, it is apparent that the early diagnosis of GDM made with fasting glucose tests in the first trimester has only limited correspondence to positive diagnostic results of a two-hour OGTT subsequently performed in the second half of pregnancy [7,8]. At the same time, the different approaches to diagnosing GDM are not considered at all during further monitoring or therapy. Moreover, it is unclear whether early and intensive treatment of GDM may contribute to the risk of fetal growth restriction and low weight gain in pregnant women [9].

The present study aimed to assess whether different ways of diagnosing GDM (Groups: early FPG, late FPG and late PPG) are able to identify women with different anthropometric phenotypes at the time of diagnosis. Another objective was to determine whether different ways of diagnosing GDM in these women are associated with differences in the course of pregnancy and the incidence of neonatal complications.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design, Inclusion and Exclusion Criteria

A retrospective observational study was designed in accordance with the 2008 revision of the Declaration of Helsinki. University Hospital Olomouc medical records were searched to obtain information on women monitored for impaired carbohydrate metabolism during their pregnancy. Based on national recommendations, all pregnant women in the Czech Republic are screened for GDM regardless of the presence of risk factors for its development. The study enrolled only women diagnosed with GDM using the IADPSG recommendations who could be classified into three groups by the test method (Table 1).

Table 1. The sample classified into groups by GDM diagnostic method.

| Group | Gestational Age | Test Method | Glucose Level |
|-----------|-----------------|-----------------------------------|-------------------------------------------------|
| Early FPG | 1–13 weeks | fasting glucose | FPG \geq 5.1 mmol/L |
| Late FPG | 24–28 weeks | OGTT–minute 0 | FPG \geq 5.1 mmol/L |
| Late PPG | 24–28 weeks | OGTT–minute 60 OGTT–minute 120 | PPG \geq 10.0 mmol/L PPG \geq 8.5 mmol/L |

OGTT = oral glucose tolerance test; FPG = fasting plasma glucose; PPG = postprandial plasma glucose.

We excluded women diagnosed with diabetes prior to their pregnancy (type 1 or 2 diabetes mellitus, maturity-onset diabetes of the young) as well as those meeting the criteria of apparent diabetes in the current pregnancy (FPG \geq 7.0 mmol/L and/or post-OGTT glucose levels \geq 11.1 mmol/L).

During their first visit, all the women were educated on basic dietary and lifestyle measures. Insulin therapy was only initiated if at least one of the following criteria was met:

(1) FPG > 5.3 mmol/L; one-hour PPG repeatedly 7.6 mmol/L or two-hour PPG repeatedly >6.6 mmol/L. None of the enrolled patients received oral antidiabetic drugs. The review of medical records yielded information on the patients' history (age, parity) and risk factors for the development of diabetes (family history of diabetes mellitus, history of GDM, birth weight > 4000 g). Early pregnancy anthropometric data (weight, height, BMI) were obtained from records on the first prenatal visit. Information on weight gains and GDM management (diet, insulin therapy) came from subsequent antenatal appointments. Data on birth weight, type of delivery (vaginal or cesarean), neonatal complications (neonatal hypoglycemia, infant jaundice) were retrieved from gynecology department records.

2.2. Laboratory Methods

Biochemical parameters (glucose, glycated hemoglobin and fructosamine levels) were analyzed using the Cobas 8000 system (Roche, Mannheim, Germany). Samples for the analyses were collected in the morning following at least 12-h fasting during the first prenatal visit.

2.3. Statistical Methods

Continuous variables are expressed as the mean, median and standard deviation. Differences in continuous variables among the groups were analyzed using the Kruskal–Wallis test. Differences in discrete variables among the groups were assessed by the chi-squared test on contingency tables. Spearman's coefficient was used to express the correlation rate. All hypotheses were tested at a 0.05 level of significance. Data were assessed using MATLAB Version 7.5.0.342 (R2007b).

3. Results

3.1. Classification by GDM Diagnostic Method

In the sample, GDM was predominantly diagnosed by increased FPG levels (early FPG and late FPG groups), namely in 73.9% of cases. At the same time, more than a quarter of the women (26.1%) were identified in early pregnancy (Figure 1).

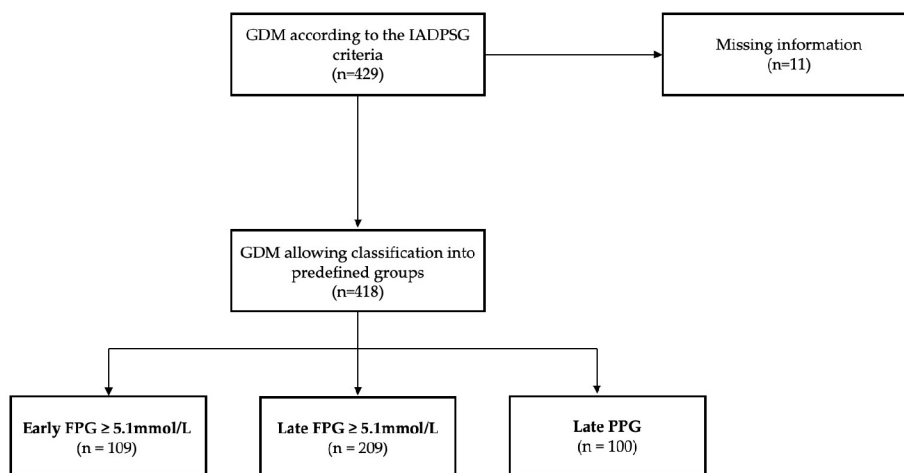


Figure 1. The sample classified into groups by GDM diagnostic method.

3.2. Basis Sample Characteristics

The statistical analysis first focused on comparing all three groups in early pregnancy. The results are shown in Table 2. The women in the groups did not differ in terms of age, parity, presence of risk factors for the development of diabetes or metabolic control

parameters (glycated hemoglobin levels) at the time of GDM diagnosis. However, there were differences in weight (i.e., BMI) at the beginning of their pregnancy. For women in all groups, early pregnancy BMI was positively correlated with glycated hemoglobin levels at the time of GDM diagnosis ($\rho = 0.36, p < 0.001$; $\rho = 0.23, p < 0.001$; $\rho = 0.30, p < 0.001$).

Table 2. Basic sample characteristics. Anthropometric and laboratory analyses at diagnosis.

| | Entire Sample | Early FPG ≥ 5.1 mmol/L | Late FPG ≥ 5.1 mmol/L | Late PPG | p-Value |
|-----------------------------|------------------------|-----------------------------|----------------------------|------------------------|---------|
| Age | 31.6 (32) \pm 5.32 | 31.1 (31) \pm 5.1 | 31.8 (32) \pm 5.5 | 31.4 (31) \pm 4.9 | ns |
| Family history of DM (%) | 59.2 (180/304) | 36 (26/72) | 44 (66/150) | 40 (29/73) | ns |
| Weight (kg) | 73.8 (70.8) \pm 17.7 | 78.3 (76.0) \pm 19.1 | 74.2 (72) \pm 16.7 | 67.2 (62) \pm 15.7 | <0.001 |
| BMI (kg/m ²) | 26.3 (25) \pm 6.0 | 27.9 (27.2) \pm 6.6 | 26.4 (25.0) \pm 5.8 | 24.4 (22.8) \pm 5.2 | <0.001 |
| HbA1c (mmol/mol) | 31.1 (31) \pm 4.0 | 31.8 (31) \pm 4.8 | 30.7 (31) \pm 3.8 | 30.8 (31) \pm 3.2 | ns |
| Fructosamine (μ mol/L) | 200.4 (199) \pm 17.7 | 211.7 (211) \pm 20.3 | 195.3 (194) \pm 15.4 | 197.3 (197) \pm 13.7 | <0.001 |

DM = diabetes mellitus; BMI = body mass index; HbA1c = glycated hemoglobin. Data shown as the mean (median) \pm standard deviation. Numbers of patients in groups: early FPG ($n = 109$), late FPG ($n = 209$), late PPG ($n = 100$). Differences in discrete variables among the groups (early FPG vs. late FPG vs. late PPG) were assessed by the chi-squared test on contingency tables; $p < 0.05$ is considered to be statistically significant.

3.3. Course of Pregnancy

There were significant differences in overall weight gain among the groups of women with GDM. Moreover, in those diagnosed by increased FPG levels (early FPG and late FPG groups), this weight gain was negatively associated with BMI at the beginning of pregnancy ($\rho = -0.25, p < 0.05$; $\rho = -0.21, p < 0.001$). Similarly, there were significant differences in birth weight among the groups. In the early FPG and late FPG groups (GDM diagnosed based on increased FPG levels), birth weight was positively correlated with early pregnancy BMI ($\rho = 0.27, p < 0.05$; $\rho = 0.23, p < 0.001$). Insulin therapy was more frequently used to control GDM in women with increased fasting glucose levels (early FPG and late FPG groups) and was associated with body weight ($\rho = 0.19, p < 0.001$), BMI ($\rho = 0.24, p < 0.001$) and glycated hemoglobin at the time of GDM diagnosis ($\rho = 0.30, p < 0.001$). In the present study, different ways of diagnosing GDM had no effect on the incidence of the neonatal complications studied. Thus, the incidence was comparable in the three groups. The results are shown in Table 3.

Table 3. Body weight changes, need for treatment and neonatal complications.

| | Early FPG ≥ 5.1 mmol/L | Late FPG ≥ 5.1 mmol/L | Late PPG | p-Value |
|---------------------------|-----------------------------|----------------------------|-------------------------|---------|
| Weight gain (kg) | 9.32 (9.0) \pm 6.76 | 12.73 (11.0) \pm 8.47 | 11.05 (10.0) \pm 4.66 | <0.05 |
| Insulin therapy (%) | 14.7 (16/109) | 7.2 (15/209) | 4 (4/100) | <0.05 |
| Birth weight (g) | 3372.2 \pm 552.2 | 3415.6 \pm 529.0 | 3199.0 \pm 560.5 | <0.05 |
| Emergency cesarean (%) | 12.5 (9/72) | 19.9 (30/151) | 18.9 (14/74) | ns |
| Neonatal hypoglycemia (%) | 14.1 (10/71) | 10 (15/150) | 7 (5/71) | ns |
| Neonatal jaundice (%) | 43.1 (31/72) | 41.1 (62/151) | 47.3 (35/74) | ns |

Data shown as the mean (median) \pm standard deviation or as percentages (n/N). Numbers of patients in groups: Early FPG ($n = 109$), Late FPG ($n = 209$), Late PPG ($n = 100$). Differences in discrete variables among the groups (Early FPG vs. Late FPG vs. Late PPG) were assessed by the chi-squared test on contingency tables; $p < 0.05$ is considered to be statistically significant.

4. Discussion

Using the IADPSG criteria for GDM in early pregnancy, we can identify a group of pregnant women who show differences in anthropometric parameters and course of pregnancy compared with women who were diagnosed later in pregnancy. In our study, we showed that early GDM diagnosis (FPG ≥ 5.1 mmol/L) is associated with increased body weight and BMI at the beginning of pregnancy. At the same time, early GDM diagnosis is accompanied by more frequent insulin treatment and higher birth weight. There was no association between the method of GDM diagnosis and the incidence of neonatal complications.

The main period of pregnancy in which the screening and diagnosis of GDM is carried out is the period between the 24th and 28th week of pregnancy. There is indisputable scien-

tific evidence for the association between hyperglycemia during this period of pregnancy and late maternal and neonatal complications. At the same time, there is a known association between hyperglycemia and the incidence of congenital malformations in women with T1DM in early pregnancy. Therefore, there is concern about the negative impact of mild hyperglycemia in early pregnancy on fetal development and the subsequent course of pregnancy. Despite efforts to reach consensus, the way of diagnosing GDM in early pregnancy remains a rather controversial topic. Neither has a suitable screening test been found, nor have diagnostic thresholds been agreed upon for glucose levels in early gestation that would be clearly associated with a higher risk for complications in both mothers and fetuses later in the pregnancy [9]. Currently, screening for glucose metabolism impairment in early pregnancy is mainly focused on the detection and adequate treatment of overt diabetes. If overt diabetes is ruled out during the first antenatal visit, it is recommended to focus on pregnant women with FPG above 6.1 mmol/L because of the increased risk of developing GDM later in pregnancy and the increased risk of maternal and neonatal complications [10]. With regard to the cause of GDM, three different phenotypes are currently considered: prevailing insulin resistance, impaired insulin secretion or their combination. These changes have been observed in both early and late pregnancy. An important finding is that women with dominant impaired insulin sensitivity are at a higher risk for GDM-related pregnancy complications [2,11]. However, it is yet unknown whether this proven pathophysiological difference exists in response to standard GDM therapy.

As seen from the study results, the clinical use of the IADPSG criteria for diagnosing GDM facilitated identification of three groups of pregnant women that differed in anthropometric parameters at the time of GDM diagnosis as well as in how their pregnancy progressed. The strength of the study mainly lies in including pregnant women with an early GDM diagnosis made through universal screening in the first trimester (early FPG group), that is not only a population of pregnant women at a higher risk for developing diabetes. This is how 25% of women in the sample were identified. However, information on the global prevalence of hyperglycemia diagnosed this way in early gestation is missing, mainly due to persisting differences in GDM diagnostic methods. Among overweight women ($BMI \geq 29$), 22.9% were diagnosed with early GDM using the IADPSG criteria. In the sample, FPG levels of 5.1 mmol/L or more contributed to the diagnosis in 78.5% of cases [12].

In the present study, increased FPG levels identified women with higher body weight and BMI at the beginning of their pregnancy when mothers-to-be were screened irrespective of presence or absence of GDM risk factors (i.e., including overweight or obesity). This finding is consistent with results of previous studies showing an association between GDM diagnosed by increased FPG levels and mean BMI levels suggestive of an overweight condition [2,7,12]. Thus, pre-pregnancy body weight and BMI seem to be a strong predictor for increased FPG detected in early gestation. Maternal obesity appears to be associated with increased insulin secretion (C-peptide levels) and decreased insulin sensitivity [13]. However, it appears that obesity in early pregnancy may also influence adipokines production. In our previous study we demonstrated increased adipocyte fatty acid-binding protein and decreased adiponectin levels and its correlation with visceral adiposity in women with impaired FPG in early pregnancy [14]. In contrast to higher body weight in early pregnancy, the overall weight gain was lowest in women with early GDM diagnosis in the present study. This may be explained by longer dietary restrictions as a form of GDM management. Our study did not include a control group of pregnant women with GDM who did not undergo nutritional or pharmacological intervention. Thus, the assessment of treatment effect is very limited. There is also a clear negative correlation between overall weight gain and BMI in early pregnancy. In women with early GDM diagnosis, however, insulin pharmacotherapy was initiated more frequently. This is consistent with earlier observations [15]. This may be explained by a limited effect of recommended dietary carbohydrate restriction on fasting glucose levels that repeatedly exceeded the recommended values and were a reason for therapy initiation. However, the initiation of pharmacological

treatment is based on the physician's decision. Therefore, the influence of selection bias on the outcome cannot be completely excluded.

Early GDM diagnosis was not associated with increased glycated hemoglobin levels. In the present study, the mean glycated hemoglobin level at diagnosis was within the range typical for normal glucose metabolism. It is, therefore, unlikely that using the IADPSG criteria in early pregnancy would have identified women with impaired glucose metabolism prior to their gestation. However, there is a clear positive correlation of glycated hemoglobin levels with body weight and BMI at the beginning of pregnancy. In contrast, there were significant differences in fructosamine levels. This may be explained by a drop in albumin concentrations in the second half of pregnancy (i.e., at the time of GDM diagnosis in the late FPG and late FPG groups) (14). Since fructosamine levels predominantly reflect albumin glycation, the differences in fructosamine concentrations are more likely to be associated with changes in albumin concentrations rather than the actual increase in non-enzymatic glycation occurring 2–3 weeks prior to sample collection. Given the retrospective design of the study, however, fructosamine measurements could not be corrected for albumin concentrations at the time of GDM diagnosis.

There were no statistically significant differences in the incidence of selected perinatal complications among the groups in our study. This is in contrast to results from a meta-analysis of 13 studies showing an increased relative risk of perinatal mortality and neonatal hypoglycemia in women with early GDM diagnosis compared with those diagnosed with GDM in the second half of their pregnancy [15]. The difference may be explained by the overall time of monitoring and treatment of women with GDM. However, it was not possible to assess the severity of GDM, total insulin dose or changes in glycemic profile as these data could not be obtained in a retrospective study. Early GDM diagnosis was also associated with higher birth weight. This may be due to previously described fetal hyperinsulinemia resulting from insulin resistance and more frequent insulin therapy [2,16]. Macrosomia (birth weight > 4000 g) was not associated with any of the groups defined in the present study. On the other hand, it was correlated with BMI levels, age and glycated hemoglobin levels at the time of GDM diagnosis. Due to the retrospective design of our study, it was not possible to perform OGTT between 24 and 28 weeks of gestation in women who were diagnosed with GDM early in pregnancy based on fasting glycaemia (early FPG group). As suggested by some studies, there is limited correlation between first trimester fasting glycaemia and 2-h 75 g OGTT in the diagnosis of GDM. Therefore, the presence of women in the early FPG group who would not meet the diagnostic criteria for GDM in the second half of pregnancy cannot be excluded and may have influenced the incidence of the observed outcomes.

5. Conclusions

Gestational diabetes, characterized by increased fasting plasma glucose levels (≥ 5.1 mmol/L) in early pregnancy according to the IADPSG criteria, is associated with increased body weight and BMI at the beginning of pregnancy as well as with a higher risk for insulin therapy and increased birth weight. The present study failed to show its impact on the likelihood of neonatal complications or fetal macrosomia.

Author Contributions: Concept and design: O.K. and D.K.; methodology: O.K. and D.K.; investigation: O.K., D.M. and L.C.; data analysis: O.K., D.M. and D.K.; writing—original draft preparation: O.K., D.M., L.C. and D.K.; writing—review and editing: O.K. and D.K.; funding acquisition: O.K. and D.K. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was supported by MH CZ–DRO (FNOL, 00098892); AZV NV18-01-00139.

Institutional Review Board Statement: The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Medical Faculty and University Hospital Olomouc (approval no. 120/17), and informed consent was obtained from all participants. All procedures performed in the studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional research committee and with the 1964 Helsinki Declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The data used in this manuscript are available upon request.

Acknowledgments: The authors thank the study participants as well as Tomáš Fürst for help with statistical analyses.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Diagnostic Criteria and Classification of Hyperglycaemia First Detected in Pregnancy: A World Health Organization Guideline. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **2014**, *103*, 341–363. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Powe, C.E.; Allard, C.; Battista, M.-C.; Doyon, M.; Bouchard, L.; Ecker, J.L.; Perron, P.; Florez, J.C.; Thadhani, R.; Hivert, M.-F. Heterogeneous Contribution of Insulin Sensitivity and Secretion Defects to Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* **2016**, *39*, 1052–1055. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Group, H.S.C.R.; Metzger, B.E.; Lowe, L.P.; Dyer, A.R.; Trimble, E.R.; Chaovarindr, U.; Coustan, D.R.; Hadden, D.R.; McCance, D.R.; Hod, M.; et al. Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes. *N. Engl. J. Med.* **2008**, *358*, 1991–2002. [[CrossRef](#)]
4. Clausen, T.D.; Mathiesen, E.R.; Hansen, T.; Pedersen, O.; Jensen, D.M.; Lauenborg, J.; Damm, P. High Prevalence of Type 2 Diabetes and Pre-Diabetes in Adult Offspring of Women With Gestational Diabetes Mellitus or Type 1 Diabetes: The Role of Intrauterine Hyperglycemia. *Diabetes Care* **2007**, *31*, 340–346. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Daly, B.; Toulis, K.A.; Thomas, N.; Gokhale, K.; Martin, J.; Webber, J.; Keerthy, D.; Jolly, K.; Saravanan, P.; Nirantharakumar, K. Increased Risk of Ischemic Heart Disease, Hypertension, and Type 2 Diabetes in Women with Previous Gestational Diabetes Mellitus, a Target Group in General Practice for Preventive Interventions: A Population-Based Cohort Study. *PLoS Med.* **2018**, *15*, e1002488. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups Consensus Pan. International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups Recommendations on the Diagnosis and Classification of Hyperglycemia in Pregnancy. *Diabetes Care* **2010**, *33*, 676–682. [[CrossRef](#)]
7. Corrado, F.; D’Anna, R.; Cannata, M.L.; Interdonato, M.L.; Pintaudi, B.; Benedetto, A.D. Correspondence between First-Trimester Fasting Glycaemia, and Oral Glucose Tolerance Test in Gestational Diabetes Diagnosis. *Diabetes Metab* **2012**, *38*, 458–461. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Zhu, W.; Yang, H.; Wei, Y.; Yan, J.; Wang, Z.; Li, X.; Wu, H.; Li, N.; Zhang, M.; Liu, X.; et al. Evaluation of the Value of Fasting Plasma Glucose in the First Prenatal Visit to Diagnose Gestational Diabetes Mellitus in China. *Diabetes Care* **2013**, *36*, 586–590. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Simmons, D. Paradigm Shifts in the Management of Diabetes in Pregnancy: The Importance of Type 2 Diabetes and Early Hyperglycemia in Pregnancy. *Diabetes Care* **2020**, *44*, 1075–1081. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Committee, A.D.A.P.P. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2022. *Diabetes Care* **2021**, *45*, S17–S38. [[CrossRef](#)]
11. Immanuel, J.; Simmons, D.; Harreiter, J.; Desoye, G.; Corcoy, R.; Adelantado, J.M.; Devlieger, R.; Lapolla, A.; Dalfrà, M.G.; Bertolotto, A.; et al. Metabolic Phenotypes of Early Gestational Diabetes Mellitus and Their Association with Adverse Pregnancy Outcomes. *Diabet. Med.* **2020**, *38*, e14413. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Harreiter, J.; Simmons, D.; Desoye, G.; Corcoy, R.; Adelantado, J.M.; Devlieger, R.; van Assche, A.; Galjaard, S.; Damm, P.; Mathiesen, E.R.; et al. IADPSG and WHO 2013 Gestational Diabetes Mellitus Criteria Identify Obese Women With Marked Insulin Resistance in Early Pregnancy. *Diabetes Care* **2016**, *39*, e90–e92. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Bandres-Meriz, J.; Dieberger, A.M.; Hoch, D.; Pöchlauer, C.; Bachbauer, M.; Glasner, A.; Niedrist, T.; van Poppel, M.N.M.; Desoye, G. Maternal Obesity Affects the Glucose-Insulin Axis During the First Trimester of Human Pregnancy. *Front. Endocrinol.* **2020**, *11*, 566673. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Karasek, D.; Krystynik, O.; Kucerova, V.; Macakova, D.; Cibickova, L.; Schovaneck, J.; Haluzik, M. Adiponectin, A-FABP and FGF-19 Levels in Women with Early Diagnosed Gestational Diabetes. *J. Clin. Med.* **2022**, *11*, 2417. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Immanuel, J.; Simmons, D. Screening and Treatment for Early-Onset Gestational Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Curr. Diabetes Rep.* **2017**, *17*, 115. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Zawiejska, A.; Wender-Ozegowska, E.; Radzicka, S.; Brazert, J. Maternal Hyperglycemia According to IADPSG Criteria as a Predictor of Perinatal Complications in Women with Gestational Diabetes: A Retrospective Observational Study. *J. Matern.-Fetal Neonatal Med.* **2014**, *27*, 1526–1530. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

RESEARCH

Open Access



Non-altered incretin secretion in women with impaired fasting plasma glucose in the early stage of pregnancy: a case control study

Ondrej Krystynik¹, David Karasek^{1*}, Michal Kahle², Veronika Kubickova³, Dominika Macakova¹, Lubica Cibickova¹, Milos Mraz⁴ and Martin Haluzik⁴

Abstract

Backgrounds Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) and glucose-dependent insulinotropic peptide (GIP) may be involved in pathogenesis of gestational diabetes mellitus (GDM). The aim was to compare GLP-1 and GIP production in fasting state and during 3 h mixed meal tolerance test (MMTT) measured by mean area under the curve (AUC) between pregnant women with normal and impaired fasting glucose in an early phase of pregnancy, and healthy non-pregnant controls.

Methods This study was undertaken as a case–control study. Repeated measurement of fasting plasma glucose ≥ 5.1 mmol/L and < 7.0 mmol/L during the first trimester of pregnancy and exclusion of overt diabetes according to IADSPG criteria was used to find women with impaired fasting glucose ($n = 22$). Age-matched controls consisted of healthy pregnant ($n = 25$) and non-pregnant ($n = 24$) women. In addition to incretins, anthropometric parameters and markers of insulin resistance and beta-cell function were assessed. Variables were summarized as median (interquartile range).

Results Fasting GLP-1 and GIP concentration or their AUC during MMTT did not significantly differ between pregnant women with impaired fasting plasma glucose [GLP-1_{AUC} 19.0 (53.1) and GIP_{AUC} 302 (100) pg/mL/min] and healthy pregnant women [GLP-1_{AUC} 16.7 (22.3) and GIP_{AUC} 297 (142) pg/mL/min] or non-pregnant controls [GLP-1_{AUC} 16.8 (9.8) and for GIP_{AUC} 313 (98) pg/mL/min]. Although women with impaired fasting glucose were more obese and showed decreased beta-cell function, there were not significant correlations between incretin production and parameters of insulin secretion, insulin resistance, or obesity.

Conclusions Women with impaired fasting plasma glucose did not show altered incretin production in the first trimester of pregnancy. In contrast to type 2 diabetes, impaired incretin secretion does not seem to play a major role in the early development of GDM.

Keywords Gestational diabetes, Glucagon-like peptide 1, Glucose-dependent insulinotropic peptide, Glucagon, Meal test

*Correspondence:

David Karasek
david.karasek@fnol.cz

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s) 2023. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

Background

Gestational diabetes mellitus (GDM) is defined as glucose intolerance first detected during pregnancy that resolves after delivery. GDM affects 5–30% of pregnancies, depending on the diagnostic criteria used [1–3]. The pathophysiology of GDM is not yet fully understood, although it generally involves relatively insufficient insulin secretion with increased peripheral insulin resistance that develops during pregnancy [4].

Incretins such as glucagon-like peptide 1 (GLP-1) and glucose-dependent insulintropic peptide (GIP) could be involved in mechanisms compensating the increase in blood glucose due to insulin resistance observed in pregnant women [5]. Both GLP-1 and GIP have additive effects on insulin secretion following their increased production induced by nutrients from the gut [6]. Impaired incretin effect may contribute to impaired glucose postprandial control, which is characteristic of some GDM phenotypes. GLP-1 suppresses, and GIP increases glucagon secretion. Glucagon abnormalities (increased fasting levels and delayed glucagon suppression after glucose intake) has been reported in type 2 diabetes; however, its role in GDM is still unknown. Only a few studies have investigated fasting or postprandial GLP-1, GIP and/or glucagon concentrations in patients with GDM and reported contrasting results [7–14]. These discrepancies may be due to the variable representation of women with different GDM phenotypes, i.e. with a varied contribution of insulin resistance, impaired postprandial insulin secretion and/or incretin resistance. A different methodology for determining incretin levels, such as different laboratory kits and the use of various stimulating meal compositions, can play a role in the discordant results of postprandial incretin concentrations [15]. Comparative studies have shown that mixed meal tolerance test (MMTT), based on the ingestion of a standardized liquid meal, induces a stronger beta-cell response than the oral glucose tolerance test (OGTT) in the individuals with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes [16]. The use of the MMTT probably leads to a greater response of both incretin hormones and according to some authors is better suited to detect small differences in their secretion, which may explain some of the different results also in subjects with GDM [7, 8, 10]. The incretin response may also be dependent on the period of pregnancy. Little is known about altered incretin production in the early phase of gravidity and its potential role in the development of GDM during this period.

According to current recommendations, the first step to diagnose glucose intolerance in pregnancy should be performed during the initial visit (usually in the first trimester) to detect women with overt diabetes who have not been previously diagnosed outside of pregnancy [17].

However, there is still debate over the correct diagnostic criteria for GDM in the first part of pregnancy. The International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG) recommended to classify fasting plasma glucose (FPG) ≥ 5.1 mmol/L and < 7.0 mmol/L as early GDM [18]. Unfortunately, these recommendations were not derived from sufficient clinical data obtained in early pregnancy and have therefore been criticized. Recently, it has been recommended to identify women with FPG > 6.1 mmol/L in early pregnancy because of the increased risk of developing GDM later in pregnancy and the increased risk of pregnancy and neonatal complications [17]. On the one hand, the IADPSG recommendations for early screening and detection of GDM are not based on sufficient clinical data, but on the other hand, application of the IADPSG early pregnancy screening process has been shown to identify women at increased risk of elevated blood pressure and insulin resistance in later gestation [19]. Impaired incretin effect may occur early in the disease process, as shown in adults and adolescents with insulin resistance and obesity [20, 21]. Thus, we can hypothesize that women with impaired fasting glucose in early pregnancy compared to pregnant women with normal glucose tolerance will show an altered incretin response.

The primary aim of our study was to investigate whether there is a difference in GLP-1, GIP, and glucagon response during a 3-h oral MMTT measured by total area under the curve (AUC) between pregnant women with impaired FPG in the first trimester of pregnancy compared to control pregnant and non-pregnant subjects. Secondary aim was to examine the relationship between incretin production and parameters of insulin resistance and beta-cell function.

Material and methods

Study design, inclusion and exclusion criteria

The study was undertaken as a case–control study in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki as revised in 2008. It was reviewed and approved by the Ethics Committee of Medical Faculty and University Hospital Olomouc (approval no. 120/17) and informed consent was obtained from all participants. Pregnant women were eligible for recruitment to the study if they were within 8–14 weeks of pregnancy. All participants were asked about their personal and medical history. Weight and height were measured at the first antenatal visit (1st trimester of pregnancy), the body mass index (BMI) was calculated as body weight/body height² (kg/m²). The diagnosis of early impairment of fasting plasma glucose (i-FPG) was based on at least two measurements of fasting plasma glucose ≥ 5.1 mmol/L and < 7.0 mmol/L on two different days during the first

trimester (8.-14. week) of pregnancy [17, 18]. The exclusion criteria were: type 1 or type 2 diabetes, secondary or genetic type of diabetes, a history of GDM, renal, liver or thyroid disease, drug or alcohol abuse and concomitant medication affecting glucose metabolism and GIT function (glucocorticoids, proton pump inhibitors, prokinetics, pancreatic enzyme products). Healthy pregnant women had normal glucose levels throughout their pregnancy, including the subsequent OGTT at 24–28 weeks of gestation [17, 18]. Non-pregnant age-matched controls comprised healthy women without a personal history of glucose intolerance or diabetes (including GDM or a history of delivering a high birth weight baby, i.e. ≥ 4.5 kg).

Mixed meal tolerance test

Each MMTT was performed with standardized liquid meals after 10 h overnight fasting, in pregnant women during the first trimester (8–14 week) of pregnancy. Blood samples were collected at baseline and at 30, 60, 120, and 180 min after ingestion of 200 ml of commercially available liquid enteral nutrition (Fresubin Original Drink®, Fresenius Kabi, Germany; 100 ml contains 420 kJ of energy intake, i.e. 3.4 g (30 kJ %) of fat, 13.8 g (55 kJ %) of carbohydrates, and 3.8 g (15 kJ %) of proteins) between 7 and 10 am. Samples for measurement of GLP-1, GIP, and glucagon were collected into special blood tubes with an inhibitor cocktail consisting of a dipeptidyl peptidase 4, esterase and other protease inhibitors (BD P800, Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, USA) and then separated by centrifugation for 10 min at 1000 g within 30 min of blood collection. Plasma was subsequently stored in aliquots at -80 °C until further analysis.

Laboratory analyses

Routine biochemical parameters (glucose, HbA1C, insulin, C-peptide) were measured by an automated analyzer Cobas 8000 (Roche) on the day of blood collection. Concentrations of incretins and glucagon were measured in sample aliquots stored at -80 °C for no longer than 6 months.

Glucose levels were determined using the hexokinase method (GLUC3, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). Levels of HbA1C were measured by ion exchange chromatography using the Arkray Adams HA-8180 V analyzer (Arkray Corporation, Kyoto, Japan). Insulin and C-peptide levels were determined with commercially available kits (Immunotech, Marseille, France) using an immunoradiometric assay with specific antibodies. Based on fasting glucose and insulin levels the homeostasis model assessment of β -cell function (HOMA- β), homeostasis model assessment of insulin resistance

(HOMA-IR) indexes [22], and quantitative insulin sensitivity check index (QUICKI) [23] were calculated.

Plasma glucagon, GLP-1, and GIP concentrations were measured by commercial multiplex assay (Human Metabolic Hormone Magnetic Bead Panel, HMHEMAG-34 K, Merck Millipore, USA). Sensitivity was 13.0 pg/mL for glucagon, 1.2 pg/mL for GLP-1 and 0.6 pg/mL for GIP. Intra- and inter-assay variabilities for the kits were $<10\%$ and 15% , respectively.

Statistical analyses

All variables are summarized as mean \pm standard deviation (SD) for normally distributed data or median (interquartile range) otherwise. Normal distribution was tested by Shapiro–Wilk’s test. Differences in variables between the groups were analyzed with the t-test for normally distributed variables or with the Mann–Whitney U-test for non-normally distributed variables. Spearman coefficient (ρ) was used to express the value of correlation. The mean area under the curve (AUC) was calculated using the trapezoidal rule divided by the time interval. The distribution of GIP_{AUC} is approximately normal. Given the distribution of the measurements and the desired power of 80% we would need 16 participants in each group to detect a difference of 33% (i.e. 100 pg/mL) in any direction by a two-tailed t-test. The distribution of GLP-1_{AUC} is approximately normal after log transformation. Given the distribution of the measurements and the desired power of 80% we would need 26 participants in each group to detect an increase of 100% or decrease of 50% in the original scale by a two-tailed t-test. $P < 0.05$ was considered as significant. Statistical analyses were performed using the Python ecosystem.

Results

Basic clinical and laboratory characteristic and incretins levels in individual groups

Twenty-two pregnant women with early diagnosed fasting plasma impairment, 25 healthy pregnant women and 24 non-pregnant healthy controls met eligible criteria for this study (see Fig. 1 and Table 1). All participants were of Caucasian ethnicity. Women with i-FPG had significantly higher BMI, FPG, HbA_{1C}, and C-peptide levels compared to healthy pregnant women or compared to non-pregnant healthy controls. Only in comparison to healthy pregnant women they also had lower HOMA- β . Healthy pregnant women had significantly lower FPG compared to non-pregnant healthy controls. There were no differences between groups in HOMA-IR and QUICKI. FPG and HbA_{1C} levels in all pregnant women positively correlated with BMI ($\rho = 0.37$, $\rho = 0.49$ respectively). No significant differences in fasting plasma concentration of GLP-1, GIP, or glucagon between pregnant women were

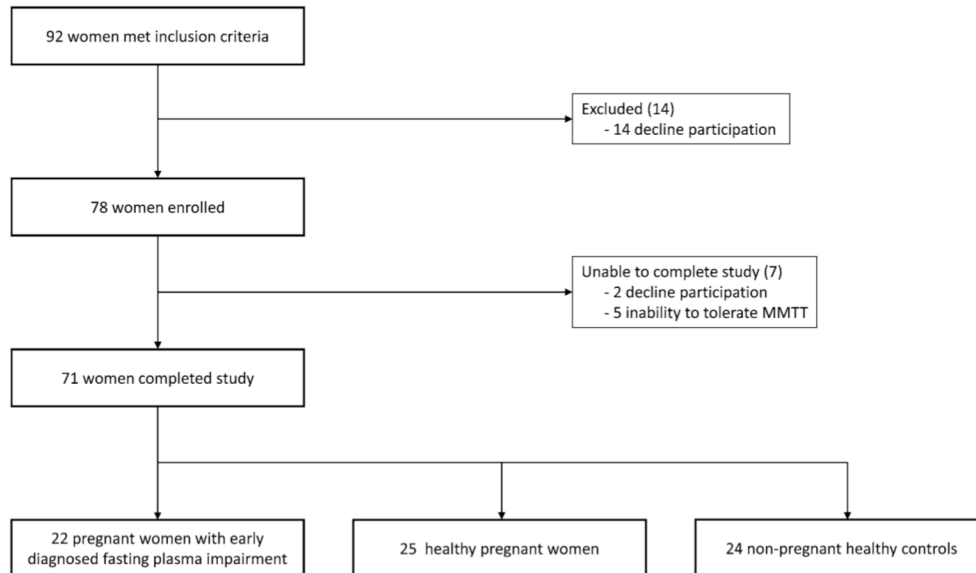


Fig. 1 Flow diagram of study participants, MMTT mixed meal tolerance test

Table 1 Basic clinical and laboratory characteristics in individual groups

| | Pregnant women i-FPG (n = 22) | Healthy pregnant women (n = 25) | Non-pregnant healthy controls (n = 24) |
|------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|----------------------------------------|
| age (years) | 31.6 ± 5.0 | 29.4 ± 3.0 | 29.2 ± 3.5 |
| gestational age (weeks) | 11.3 ± 2.1 | 11.0 ± 1.9 | – |
| Weight (kg) | 80.0 ± 14.5 ^{b,c} | 68.0 ± 12.3 ^a | 64.0 ± 6.8 ^a |
| BMI (kg/m ²) | 28.9 ± 5.4 ^{b,c} | 23.4 ± 4.0 ^a | 22.6 ± 2.8 ^a |
| FPG (mmol/L) | 5.1 ± 0.4 ^{b,c} | 4.4 ± 0.4 ^{a,c} | 4.7 ± 0.3 ^{a,b} |
| HbA _{1c} (mmol/mol) | 33.0 ± 2.7 ^{b,c} | 29.9 ± 2.5 ^a | 31.1 ± 1.8 ^a |
| C-peptide (pg/mL) | 1211 (720) ^{b,c} | 840 (378) ^a | 1078 (526) ^a |
| Insulin (pg/mL) | 348 (381) | 306 (343) | 296 (324) |
| HOMA-IR | 2.01 (1.85) | 1.40 (1.55) | 1.59 (1.80) |
| HOMA-β | 105 (108) ^b | 214 (283) ^a | 173 (143) |
| QUCKI | 0.34 (0.05) | 0.36 (0.05) | 0.36 (0.05) |
| GLP-1 (pg/mL) | 6.4 (14.9) ^c | 4.7 (19.9) | 2.6 (5.7) ^a |
| GLP (pg/mL) | 36.3 (28.4) ^c | 36.3 (35.5) ^c | 56.5 (46.6) ^{a,b} |
| Glucagon (pg/mL) | 49.2 (31.4) | 50.6 (32.2) | 38.9 (42.2) |

Values are expressed means ± standard deviation or medians and interquartile ranges (for data with non-normal distribution). Laboratory samples were taken in a fasting state. All investigated women represent the Caucasian population

Uncorrected differences (p < 0.05) according to the t-test (for normally distributed variables) or to the Mann–Whitney U-test (for non-normally distributed variables):

i-FPG impaired fasting plasma glucose, BMI body mass index, FPG fasting plasma glucose, HbA_{1c} glycated hemoglobin A_{1c}, HOMA-IR homeostasis model assessment of insulin resistance, HOMA-β homeostasis model assessment of β-cell function, QUCKI quantitative insulin sensitivity check index, GLP-1 glucagon-like peptide 1, GLP glucose-dependent insulinotropic peptide

^a = vs pregnant women with Ifpg

^b = vs healthy pregnant women

^c = vs non-pregnant healthy controls

observed at time 0. Compared to non-pregnant healthy controls both pregnant women had lower levels of GIP. In pregnant women with i-FPG there were also significantly higher fasting GLP-1 concentrations compared to non-pregnant controls—see Table 1, Fig. 2.

Changes of glucose and hormones levels during MMTT

Figure 2 shows changes in glucose and hormone levels during the MMTT. Women with i-FPG had significantly higher C-peptide levels throughout the MMTT and higher blood glucose levels at 30, 60, and 120 min of the MMTT compared to healthy pregnant or non-pregnant controls. They also had higher insulin levels after 60 and 120 min of the MMTT, but only compared to non-pregnant women. Healthy pregnant women had significantly lower glycemia at 180 min, higher C-peptide at 60 and 120 min, and insulin at 60 min of the MMTT compared with non-pregnant controls. Table 2 shows AUC for glucose and hormones levels in individual groups. Glucose_{AUC}, C-peptide_{AUC}, and insulin_{AUC} were significantly increased in pregnant women with i-FPG compared to healthy pregnant women or non-pregnant controls. These differences were not significant after adjustment for BMI. Higher GLP-1 levels in all pregnant women in comparison to non-pregnant controls were observed only at 180 min of the MMTT. No other significant differences in GLP-1 were detected between groups during the MMTT test and there were no significant differences in glucagon and GIP levels. No significant

differences in GLP-1_{AUC}, GIP_{AUC}, glucagon_{AUC} between investigated groups were detected – see Table 2.

There was a correlation between GLP-1_{AUC} and GIP_{AUC} ($\rho=0.41$) and between glucagon_{AUC} and both GLP-1_{AUC} ($\rho=0.37$) and GIP_{AUC} ($\rho=0.36$) in all pregnant women. In pregnant women with i-FPG, glucagon_{AUC} correlated with GLP-1_{AUC} ($\rho=0.48$), whereas in healthy pregnant women there was a correlation between glucagon_{AUC} and GIP_{AUC} ($\rho=0.49$). Correlations between selected baseline parameters and GLP-1_{AUC}, GIP_{AUC} and glucagon_{AUC} are presented in the Table 3.

Discussion

Studies focused on the possible role of incretin hormones in the development of gestational diabetes mellitus have brought conflicting results. Here, we tested the hypothesis that women with impaired fasting glucose will demonstrate an altered incretin response during mixed meal tolerance test in an early phase of pregnancy as compared to pregnant women with normal glucose tolerance. As expected, women with early diagnosed i-FPG were more obese and showed signs of decreased beta-cell function measured by HOMA- β . Although they had higher C-peptide levels, markers of insulin resistance (HOMA-IR, QUICKI) did not significantly differ compared to controls. Despite the impaired glucose homeostasis and insulin secretion, our study did not find significant differences in GLP-1, and GIP concentration during fasting state or during 3-h oral MMTT (measured as AUC)

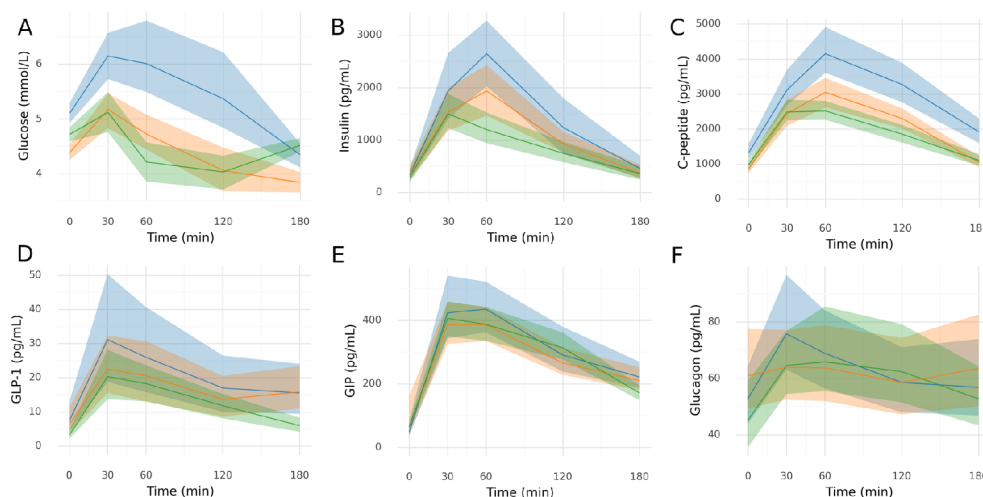


Fig. 2 Changes of glucose and hormones levels during MMTT in individual groups. Mean and 95% confidence intervals are shown for glucose, GIP and glucagon. Insulin, C-peptide and GLP-1 follow approximately log-normal distribution so geometric mean (equivalent to arithmetic mean in log transformed data) and 95% confidence intervals are displayed. Confidence intervals were obtained in all cases by 10,000 times bootstrapping. Blue—for women with impaired fasting plasma glucose, red—for healthy pregnant women, green – for non-pregnant healthy controls

Table 2 Area under the curve during 3 h mixed meal tolerance test for glucose and hormones levels in individual groups

| | Pregnant women i-FPG (n = 22) | Healthy pregnant women (n = 25) | Non-pregnant healthy controls (n = 24) | corrected p-value |
|-------------------------------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------|
| glucose _{AUC} (mmol/mL/min) | 5.47 ± 1.00 ^{b,c} | 4.40 ± 0.64 ^a | 4.40 ± 0.53 ^a | < 0.001 |
| glucose _{AUC} adjusted for BMI (mmol/mL/min) | 5.05 ± 0.88 | 4.54 ± 0.73 | 4.62 ± 0.48 | NS |
| C-peptide _{AUC} (pg/mL/min) | 3037 (833) ^{b,c} | 2307 (822) ^a | 2092 (554) ^a | < 0.001 |
| C-peptide _{AUC} adjusted for BMI (pg/mL/min) | 2716 (954) | 2477 (941) | 2235 (760) | NS |
| insulin _{AUC} (pg/mL/min) | 1979 (973) ^{b,c} | 1271 (734) ^a | 1001 (692) ^a | 0.007 |
| insulin _{AUC} adjusted for BMI (pg/mL/min) | 1751 (660) | 1485 (940) | 1079 (723) | NS |
| GLP-1 _{AUC} (pg/mL/min) | 19.0 (53.1) | 16.7 (22.3) | 16.7 (9.8) | NS |
| GLP-1 _{AUC} adjusted for BMI (pg/mL/min) | 19.6 (54.9) | 16.9 (18.5) | 17.0 (10.6) | NS |
| GIP _{AUC} (pg/mL/min) | 317 ± 124 | 290 ± 89 | 303 ± 80 | NS |
| GIP _{AUC} adjusted for BMI (pg/mL/min) | 336 ± 119 | 286 ± 85 | 297 ± 81 | NS |
| glucagon _{AUC} (pg/mL/min) | 63.2 ± 28.1 | 61.7 ± 32.9 | 60.6 ± 29.5 | NS |
| glucagon _{AUC} adjusted for BMI (pg/mL/min) | 65.8 ± 26.9 | 61.6 ± 32.9 | 60.3 ± 29.4 | NS |

Values are expressed means ± standard deviation or medians and interquartile ranges (for data with non-normal distribution). Difference between groups was tested by one-way ANOVA for normally distributed variables or Kruskal–Wallis test otherwise. Holm–Bonferroni procedure was used to correct for multiple testing. In cases of significant difference pairwise tests were performed by t-test for normally distributed variables or to the Mann–Whitney U-test otherwise:

i-FPG impaired fasting plasma glucose, *GLP-1* = glucagon-like peptide 1, *GIP* glucose-dependent insulinotropic peptide, *AUC* area under the curve during 3 h mixed meal tolerance test, *NS* non-significant

^a = vs pregnant women with i-FPG

^b = vs healthy pregnant women

^c = vs non-pregnant healthy controls

between pregnant women with impaired fasting glucose diagnosed in the first trimester of pregnancy and age-matched healthy pregnant controls.

Only a few studies investigated GLP-1 and GIP concentrations in women with GDM and reported contrasting results. Cypryk et al. did not find an impaired secretion of GLP-1 and GIP during OGTT in women with GDM [7]. They were more insulin resistant compared to controls. Decreased GLP-1 secretion during OGTT in women with GDM was observed by Lencioni et al. [8]. These women had similar weight and BMI compared to the healthy pregnant controls, but they showed lower first-phase insulin secretion and insulin sensitivity secretion index. Reduced GLP-1 responses during OGTT were also found by Sukumar et al. [9]. These GDM subjects showed impaired insulin secretion, but they did not differ in HOMA-IR. Bonde et al. investigated postprandial GLP-1 responses in women with GDM during the MMTT [10]. They showed reduced postprandial GLP-1 secretion compared to 3–4 months postpartum, but the GLP-1 response did not differ from women with normal glucose tolerance during pregnancy (in the third trimester). Mosavat et al. found lower both GLP-1 and GIP fasting levels in patients with GDM [11]. They also had lower β-cell function as measured by HOMA-β. Lower GLP-1 and GIP were independently associated with a higher risk for GDM. Surprisingly, Fritsche et al. detected increased GLP-1 and GIP secretion during OGTT in women with

GDM [12]. These women had lower insulin secretion and similar BMI compared to healthy controls. Authors explain the pronounced GLP-1 response as part of a compensatory mechanism counteracting GLP-1 resistance in GDM subjects. All above mentioned studies focused on women with GDM diagnosed in the second trimester. Discrepant findings may be due to varied proportion of insulin resistance, and/or impaired insulin secretion (due to impaired incretin production or incretin resistance) in women with different GDM phenotypes. In our study, although women with impaired fasting glucose in the first trimester showed decreased beta-cell function, GLP-1 or GIP fasting concentrations were not altered and no significant changes in their secretion during a 3-h oral MMTT were detected. Our study thus does not support the possibility that impaired incretin secretion plays a major role in the development of early GDM.

Similar to others [9, 12] we also did not detect differences in glucagon fasting or postprandial secretion between pregnant women. GLP-1 inhibits, whereas GIP stimulates glucagon secretion [24]. A significant positive correlation between glucagon and both incretin production during MMTT was found in all pregnant women. In healthy pregnant women there was a significant correlation only between glucagon_{AUC} and GIP_{AUC}, while in women with impaired fasting glucose glucagon_{AUC} correlated only with GLP-1_{AUC}. Inappropriate positive association between glucagon and GLP-1 secretion

Table 3 Correlations between baseline parameters and incretins

| | | iFPG | | Healthy pregnant | | All Pregnant | | Non-pregnant | |
|-----------|----------|---------|-------|------------------|--------|--------------|-------|--------------|-------|
| | | fasting | AUC | fasting | AUC | fasting | AUC | fasting | AUC |
| Age | GLP-1 | -0.09 | -0.08 | 0.21 | 0.23 | 0.07 | 0.12 | -0.16 | -0.23 |
| | GIP | -0.33 | -0.04 | 0.18 | 0.14 | -0.08 | 0.09 | -0.21 | -0.06 |
| | Glucagon | -0.01 | -0.21 | -0.02 | 0.09 | 0.02 | -0.04 | -0.26 | -0.20 |
| BMI | GLP-1 | -0.15 | -0.42 | -0.01 | -0.09 | 0.01 | -0.12 | -0.42* | -0.37 |
| | GIP | -0.35 | -0.08 | -0.01 | -0.36 | -0.17 | -0.12 | -0.17 | 0.08 |
| | Glucagon | 0.25 | 0.10 | 0.04 | -0.12 | 0.09 | 0.09 | -0.34 | -0.27 |
| HbA1c | GLP-1 | 0.08 | 0.02 | 0.14 | 0.09 | 0.15 | 0.10 | 0.02 | -0.08 |
| | GIP | -0.51* | -0.09 | -0.13 | -0.13 | -0.30* | -0.08 | -0.15 | -0.11 |
| | Glucagon | 0.30 | 0.17 | 0.08 | -0.07 | 0.11 | 0.03 | -0.37 | -0.28 |
| FPG | GLP-1 | -0.08 | 0.02 | -0.47* | -0.15 | -0.19 | 0.03 | 0.10 | -0.14 |
| | GIP | -0.43* | -0.16 | -0.50* | -0.27 | -0.36* | -0.13 | 0.02 | 0.19 |
| | Glucagon | 0.26 | 0.15 | -0.40* | -0.44* | -0.16 | -0.09 | -0.11 | -0.06 |
| C-peptide | GLP-1 | 0.06 | -0.13 | 0.40* | 0.20 | 0.24 | 0.05 | -0.02 | 0.03 |
| | GIP | 0.02 | -0.05 | 0.17 | 0.41* | 0.08 | 0.21 | 0.39 | 0.37 |
| | Glucagon | 0.05 | -0.01 | 0.17 | 0.10 | 0.08 | 0.06 | 0.41* | 0.45* |
| HOMA-IR | GLP-1 | 0.27 | 0.12 | 0.30 | 0.03 | 0.29 | 0.12 | -0.08 | 0.04 |
| | GIP | -0.18 | 0.16 | 0.42* | 0.14 | 0.15 | 0.15 | 0.17 | -0.02 |
| | Glucagon | 0.34 | 0.29 | 0.32 | 0.26 | 0.33* | 0.27 | 0.24 | 0.39 |
| HOMA-β | GLP-1 | 0.30 | 0.13 | 0.45* | 0.05 | 0.35* | 0.08 | -0.08 | 0.03 |
| | GIP | -0.06 | 0.11 | 0.66*** | 0.33 | 0.36* | 0.20 | 0.27 | -0.04 |
| | Glucagon | 0.25 | 0.23 | 0.45* | 0.45* | 0.42** | 0.33* | 0.36 | 0.45* |
| QUICKI | GLP-1 | -0.27 | -0.12 | -0.30 | -0.03 | -0.29 | -0.12 | 0.08 | -0.04 |
| | GIP | 0.18 | -0.16 | -0.42* | -0.14 | -0.15 | -0.15 | -0.17 | 0.02 |
| | Glucagon | -0.34 | -0.29 | -0.32 | -0.26 | -0.33* | -0.27 | -0.24 | -0.39 |

iFPG impaired fasting plasma glucose, BMI body mass index, FPG fasting plasma glucose, HbA_{1c} glycated hemoglobin A_{1c}, HOMA-IR homeostasis model assessment of insulin resistance, HOMA-β homeostasis model assessment of β-cell function, QUICKI quantitative insulin sensitivity check index, GLP-1 glucagon-like peptide 1, GIP glucose-dependent insulinotropic peptide, AUC area under the curve during 3-h mixed meal tolerance test

For fasting levels and AUC mean of GLP-1, GIP and glucagon were correlated with baseline factors using Spearman coefficient (ρ). Stars denote uncorrected statistical significance

* p < 0.05

** p < 0.01

*** p < 0.001

during MMTT was also detected in C-peptide positive individuals with type 1 diabetes [25]. Whether this finding is clinically significant is debatable. Impaired suppression of glucagon by GLP-1 as a manifestation of incretin resistance may be involved in hyperglycemia [14, 15], however our results argue against a major contribution of increased glucagon production in the pathogenesis of early GDM.

One of the possible reasons for lack of difference in incretin secretion between groups in our study could lie in our focus on pregnant women with early diagnosed i-FPG. These results thus cannot be extrapolated to women with normal glucose levels during the first trimester of pregnancy who are diagnosed with GDM later according to abnormal oGTT at 24–28. week of

pregnancy. We did not perform MMTT in later stages of pregnancy, so we cannot exclude the possibility that altered incretin secretion in women with early diagnosed impaired fasting glucose may appear during later course. Another reason for lack of difference in incretin secretion between groups may be the lack of ethnic diversity – all participants were of Caucasian ethnicity. Different racial/ethnic backgrounds are associated with different prevalence of glucose intolerance during pregnancy [5, 17]. The homogenous sample of examined pregnant women may be a limitation of this study.

In contrast to conflicting data on the role of incretins, obesity seems to be more important factor for GDM development. Maternal obesity was associated with higher C-peptide and lower insulin sensitivity even

in the first trimester of pregnancy [26]. Diet and early mild-moderate exercise have been effective in GDM prevention [27]. In our study, we found higher levels of C-peptide both in fasting state and during the MMTT in women with i-FPG compared to healthy controls as well. However, after adjustment for BMI C-peptide_{AUC} did not show a significant difference. Although BMI did not correlate with both fasting and postprandial incretin production and women with impaired fasting glucose did not show a significant increase in markers of insulin resistance (HOMA-IR, QUICKI), they had reduced beta-cell function as measured by HOMA-β. Obesity can impair glycemic compensation not only through insulin resistance but also through disruption of beta-cell function due to adverse secretion of adipokines [28, 29]. Unbalanced adipokine (low adiponectin, high leptin) levels were detected even in overweight women with early-onset GDM [30]. Recently, we have also found in women with early GDM altered adipokines production (increased adipocyte fatty acid-binding protein and decreased adiponectin levels) that correlated with visceral adiposity and glucose control. The introduction of lifestyle interventions during pregnancy and early GDM treatment was associated with not only prevention of weight gain and with glycemic compensation, but also normalization of adipokines levels [31]. These findings support the possible role of endocrine dysfunction of adipose tissue in the development of GDM.

Conclusion

Women with early diagnosed impaired fasting glucose did not show altered fasting or postprandial incretin secretion in the first trimester of pregnancy. These patients were more obese and showed signs of decreased beta-cell function. In contrast to obesity, impaired incretin secretion does not seem to play a major role in the early development of GDM.

Abbreviations

| | |
|-------------------|------------------------------------------------------------------|
| AUC | Area under the curve |
| BMI | Body mass index |
| FPG | Fasting plasma glucose |
| GDM | Gestational diabetes mellitus |
| GIP | Glucose-dependent insulinotropic peptide |
| GLP-1 | Glucagon-like peptide 1 |
| HbA _{1C} | Glycated hemoglobin A _{1C} |
| HOMA-IR | Homeostasis model assessment of insulin resistance |
| HOMA-β | Homeostasis model assessment of β-cell function |
| IADPSG | International association of diabetes and pregnancy study groups |
| i-FPG | Impaired fasting plasma glucose |
| MMTT | Mixed meal tolerance test |
| OGTT | Oral glucose tolerance test |
| QUICKI | Quantitative insulin sensitivity check index |

Acknowledgements

The authors thank the study participants, as well as Milena Kršková, RNDr., CSc. for help with preliminary statistical analyses and Zdeňka Lacinová, RNDr. for help with analyses of incretins

Author contributions

Concept and design: OK, DK, and MH; methodology: OK, MK, MM, and DK; investigation: OK, VK, DM, MM, and LC; data analysis: OK, DK, MK, and MH; writing—original draft preparation: OK, DK, MK, and MH; writing—review and editing: OK, DK, MH; funding acquisition: OK, DK, and MH. All authors have read and approved the final manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Funding

This work was supported by AZV NV18-01-00139, MH CZ DRO (FNOL 00098892), and by the project National Institute for Research of Metabolic and Cardiovascular Diseases (Program EXCELES, ID Project No. LX22NPO5104)—Funded by the European Union – Next Generation EU.

Availability of data and materials

The data used in this manuscript are available upon request.

Declarations

Ethics approval and consent to participate

The research protocol was approved by the Ethics Committee of Medical Faculty and University Hospital Olomouc (approval no. 120/17) and informed consent was obtained from all participants. All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional research committee and with the 1964 Helsinki Declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

All authors declare no conflicts of interest.

Author details

¹Third Department of Internal Medicine – Nephrology, Rheumatology and Endocrinology, University Hospital Olomouc and Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University, I. P. Pavlova 6, 77900 Olomouc, Czech Republic. ²Department of Data Science, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Vídeňská 1958, 140 21, Prague, Czech Republic. ³Department of Clinical Biochemistry, University Hospital Olomouc, I. P. Pavlova 6, 77900 Olomouc, Czech Republic. ⁴Diabetes Centre, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Vídeňská 1958, 140 21, Prague, Czech Republic.

Received: 27 September 2022 Accepted: 6 January 2023

Published online: 30 January 2023

References

- Duran A, Sáenz S, Torrejón MJ, Bordiú E, Del Valle L, Galindo M, et al. Introduction of IADPSG criteria for the screening and diagnosis of gestational diabetes mellitus results in improved pregnancy outcomes at a lower cost in a large cohort of pregnant women: the St Carlos gestational diabetes study. *Diabetes Care*. 2014;37:2442–50.
- Meek CL, Lewis HB, Patient C, Murphy HR, Simmons D. Diagnosis of gestational diabetes mellitus: falling through the net. *Diabetologia*. 2015;58:2003–12.
- Ikomi A, Mannan S, Simon G, Khan R, Smith S, Robbins J, et al. Diagnosis of gestational diabetes during the pandemic: what is the risk of falling through the net? *Diabet Med*. 2020;37:1782–4.
- Powe CE, Allard C, Battista MC, Doyon M, Bouchard L, Ecker JL, et al. Heterogeneous contribution of insulin sensitivity and secretion defects to gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2016;39:1052–5.

5. Nikolic D, Al-Rasadi K, Al Busaidi N, Al-Waili K, Banerjee Y, Al-Hashmi K, et al. Incretins, pregnancy, and gestational diabetes. *Curr Pharm Biotechnol*. 2016;17:597–602.
6. Nauck MA, Quast DR, Wefers J, Pfeiffer AFH. The evolving story of incretins (GIP and GLP-1) in metabolic and cardiovascular disease: a pathophysiological update. *Diabetes Obes Metab*. 2021;23(Suppl 3):5–29.
7. Cypriak K, Vilsbøll T, Nadel I, Smyczyńska J, Holst JJ, Lewiński A. Normal secretion of the incretin hormones glucose-dependent insulinotropic polypeptide and glucagon-like peptide-1 during gestational diabetes mellitus. *Gynecol Endocrinol*. 2007;23:58–62.
8. Lencioni C, Resi V, Romero F, Lupi R, Volpe L, Bertolotto A, et al. Glucagon-like peptide-1 secretion in women with gestational diabetes mellitus during and after pregnancy. *J Endocrinol Invest*. 2011;34:e287–90.
9. Sukumar N, Bagias C, Goljan I, Weldeslassie Y, Gharanei S, Tan BK, et al. Reduced GLP-1 secretion at 30 minutes after a 75-g oral glucose load is observed in gestational diabetes mellitus: a prospective cohort study. *Diabetes*. 2018;67:2650–6.
10. Bonde L, Vilsbøll T, Nielsen T, Bagger JJ, Svare JA, Holst JJ, et al. Reduced postprandial GLP-1 responses in women with gestational diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab*. 2013;15:713–20.
11. Mosavat M, Omar SZ, Jamalpour S, Tan PC. Serum glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) and glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in association with the risk of gestational diabetes: a prospective case-control study. *J Diabetes Res*. 2020;2020:9072492.
12. Fritsche L, Heni M, Eckstein SS, Hummel J, Schürmann A, Häring HU, et al. Incretin hypersecretion in gestational diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2022;107:e2425–30.
13. Grigorakis SI, Alevizaki M, Beis C, Anastasiou E, Alevizaki CC, Souvatzoglou A. Hormonal parameters in gestational diabetes mellitus during the third trimester: high glucagon levels. *Gynecol Obstet Invest*. 2000;49:106–9.
14. Horie I, Haraguchi A, Ito A, Nozaki A, Natsuda S, Akazawa S, et al. Impaired early-phase suppression of glucagon secretion after glucose load is associated with insulin requirement during pregnancy in gestational diabetes. *J Diabetes Investig*. 2020;11:232–40.
15. Vollmer K, Holst JJ, Baller B, Ellrichmann M, Nauck MA, Schmidt WE, et al. Predictors of incretin concentrations in subjects with normal, impaired, and diabetic glucose tolerance. *Diabetes*. 2008;57:678–87.
16. Rijkkelijkhuizen JM, Girman CJ, Mari A, Alsema M, Rhodes T, Nijpels G, et al. Classical and model-based estimates of beta-cell function during a mixed meal vs. an OGTT in a population-based cohort. *Diabetes Res Clin Pract*. 2009;83:280–8.
17. American Diabetes Association Professional Practice Committee 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes-2022. *Diabetes Care*. 2022;45(Suppl 1):S17–38.
18. International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups Consensus Panel, Metzger BE, Gabbe SG, Persson B, Buchanan TA, Catalano PA, et al. International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. *Diabetes Care*. 2010;33:676–82.
19. Harreiter J, Simmons D, Desoye G, Corcoy R, Adelantado JM, Devlieger R, DALI Core Investigator group, IADPSG and WHO, et al. Gestational diabetes mellitus criteria identify obese women with marked insulin resistance in early pregnancy. *Diabetes Care*. 2013;2016(39):e90–2.
20. Færch K, Torekov SS, Vistisen D, Johansen NB, Witte DR, Jonsson A, et al. GLP-1 response to oral glucose is reduced in prediabetes, screen-detected type 2 diabetes, and obesity and influenced by sex: the addition-pro study. *Diabetes*. 2015;64:2513–25.
21. Manell H, Staaf J, Manukyan L, Kristinsson H, Cen J, Stenlid R, et al. Altered plasma levels of glucagon, GLP-1 and glicentin during OGTT in adolescents with obesity and type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101:1181–9.
22. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28:412–9.
23. Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follmann DA, Sullivan G, et al. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85:2402–10.
24. Holst JJ, Christensen M, Lund A, de Heer J, Svendsen B, Kielgast U, et al. Regulation of glucagon secretion by incretins. *Diabetes Obes Metab*. 2011;13(Suppl 1):89–94.
25. Thivolet C, Marchand L, Chikh K. Inappropriate glucagon and GLP-1 secretion in individuals with long-standing type 1 diabetes: effects of residual C-peptide. *Diabetologia*. 2019;62:593–7.
26. Bandres-Meriz J, Dieberger AM, Hoch D, Pöchlauer C, Bachbauer M, Glasner A, et al. Maternal obesity affects the glucose-insulin axis during the first trimester of human pregnancy. *Front Endocrinol*. 2020;11: 566673.
27. Altemani AH, Alzaheb RA. The prevention of gestational diabetes mellitus (The role of lifestyle): a meta-analysis. *Diabetol Metab Syndr*. 2022;14:83.
28. Dunmore SJ, Brown JE. The role of adipokines in β -cell failure of type 2 diabetes. *J Endocrinol*. 2013;216:T37–45.
29. Biondi G, Marrano N, Borrelli A, Rella M, Palma G, Calderoni I, et al. Adipose tissue secretion pattern influences β -cell wellness in the transition from obesity to type 2 diabetes. *Int J Mol Sci*. 2022;23:5522.
30. Lobo TF, Torloni MR, Mattar R, Nakamura MU, Alexandre SM, Daher S. Adipokine levels in overweight women with early-onset gestational diabetes mellitus. *J Endocrinol Invest*. 2019;42:149–56.
31. Karasek D, Krystynik O, Kucerova V, Macakova D, Cibickova L, Schovanek J, et al. Adiponectin, A-FABP and FGF-19 levels in women with early diagnosed gestational diabetes. *J Clin Med*. 2022;11:2417.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

At BMC, research is always in progress.

Learn more biomedcentral.com/submissions



Article

Adiponectin, A-FABP and FGF-19 Levels in Women with Early Diagnosed Gestational Diabetes

David Karasek ^{1,*} , Ondrej Krystynik ¹ , Veronika Kucerova ², Dominika Macakova ¹, Lubica Cibickova ¹, Jan Schovaneck ¹ and Martin Haluzik ³

- ¹ Third Department of Internal Medicine—Nephrology, Rheumatology and Endocrinology, Faculty of Medicine and Dentistry, University Hospital and Palacky University, I. P. Pavlova 6, 77900 Olomouc, Czech Republic; ondrej.krystynik@fnol.cz (O.K.); dominika.macakova@fnol.cz (D.M.); lubica.cibickova@fnol.cz (L.C.); jan.schovaneck@fnol.cz (J.S.)
- ² Department of Clinical Biochemistry, University Hospital, I. P. Pavlova 6, 77900 Olomouc, Czech Republic; veronika.kucerova@fnol.cz
- ³ Diabetes Centre, Institute for Clinical and Experimental Medicine, 14021 Prague, Czech Republic; halm@ikem.cz
- * Correspondence: david.karasek@fnol.cz; Tel.: +420-585-855-8595

Abstract: Background: Adiponectin, adipocyte fatty acid-binding protein (A-FABP), and fibroblast growth factor-19 (FGF-19) belong to proteins involved in glucose metabolism regulation. The aims of the study were to compare the plasma levels of these proteins in women with early diagnosed gestational diabetes mellitus (GDM) to those in healthy controls and to investigate their changes during pregnancy after early intervention. Methods: The study was undertaken as a case-control study. Early GDM diagnosis was based on repeated fasting plasma glucose ≥ 5.1 and < 7.0 mmol/L during the first trimester of pregnancy and exclusion of overt diabetes. Age-matched controls comprised healthy pregnant and non-pregnant women. In addition to adipokines, clinical parameters and measures of glucose control were assessed. Results: Women with GDM ($n = 23$) had significantly lower adiponectin and higher A-FABP levels compared to healthy pregnant ($n = 29$) or non-pregnant ($n = 25$) controls, while no significant differences in FGF-19 between the groups were found. The therapeutic intervention shifted adiponectin and A-FABP levels in GDM women towards concentrations of healthy pregnant controls. Adipokines were associated with visceral adiposity and glucose control. Conclusion: Women with GDM showed altered adipokine production even in the first trimester of pregnancy. Early therapeutic intervention not only improved glucose control but also normalized impaired adipokine production.

Keywords: gestational diabetes; adiponectin; adipocyte fatty acid-binding protein; fibroblast growth factor-19



Citation: Karasek, D.; Krystynik, O.; Kucerova, V.; Macakova, D.; Cibickova, L.; Schovaneck, J.; Haluzik, M. Adiponectin, A-FABP and FGF-19 Levels in Women with Early Diagnosed Gestational Diabetes. *J. Clin. Med.* **2022**, *11*, 2417. <https://doi.org/10.3390/jcm11092417>

Academic Editors: Basilio Pintaudi and Min Xu

Received: 18 March 2022

Accepted: 23 April 2022

Published: 25 April 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

According to the International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups, the detection and diagnosis of hyperglycemic disorders in pregnancy involve two phases [1]. The first is performed during an initial prenatal visit (usually in the first trimester) to identify women with overt diabetes not diagnosed before their pregnancy. If the results are not diagnostic for overt diabetes but are abnormal (fasting plasma glucose ≥ 5.1 mmol/L but < 7.0 mmol/L), early gestational diabetes mellitus (GDM) is suspected. Therefore, if overt diabetes is excluded, it is recommended that fasting plasma glucose (FPG) levels in early pregnancy ≥ 5.1 mmol/L are also classified as GDM [1]. The second phase is a 75 g oral glucose tolerance test (OGTT) performed at 24–28 weeks of gestation in all women who have not been previously diagnosed with overt diabetes or GDM to identify the other women with GDM. Higher FPG levels in the first trimester (lower than those diagnosed with overt diabetes) have been reported to be also associated with an increased risk of adverse

pregnancy outcomes [2]. As there is not enough data suggesting that generalized testing is beneficial in the diagnosis and treatment of GDM before the usual period of 24–28 weeks of pregnancy, some guidelines recommend early screening in high-risk patients only [3].

Even though the pathophysiology of GDM is not yet fully understood, it generally involves relatively insufficient insulin secretion with increased peripheral insulin resistance developing during pregnancy [4]. Adipose tissue dysfunction is a well-described cause of increased insulin resistance. Emerging evidence of altered adipokine expression in women with GDM suggests an important involvement of dysfunctional adipose tissue and its impaired endocrine function in the development of hyperglycemia during pregnancy [5]. Adiponectin and adipocyte fatty acid-binding protein (A-FABP) belong to abundantly expressed adipokines closely related to insulin resistance [6,7]. The beneficial effects of adiponectin on glucose metabolism include a reduction in inflammation and oxidative stress and improvement in insulin resistance; a protective effect on pancreatic β -cells; an increase in glucose utilization and fatty acid oxidation in skeletal muscles; a reduction in hepatic glucose production; and an increase in insulin-stimulated glucose uptake by adipocytes [6,8]. The main function of A-FABP is the binding of free fatty acids, but it is also involved in the regulation of inflammatory and metabolic processes [7,9]. Animal model studies suggest that A-FABP is an important player in the regulation of glucose homeostasis. Deletion of the A-FABP gene protects mice from insulin resistance and hyperinsulinemia associated with obesity [10]. Secretion of A-FABP from adipocytes can regulate hepatic glucose production and insulin secretion by pancreatic β -cells [7]. Fibroblast growth factor-19 (FGF-19) is a gut hormone with pleiotropic effects. It is secreted mainly by the small intestine in response to feeding. In addition to its role in bile acid homeostasis, FGF-19 activates an insulin-independent endocrine pathway that regulates hepatic protein and glycogen metabolism, inhibits gluconeogenesis, and promotes glucose uptake in adipocytes [11]. Lower FGF-19 levels have been observed in patients with type 2 diabetes mellitus and obese patients, suggesting that it plays a role in weight loss [12].

Early detection of GDM allows timely intervention to normalize blood glucose levels and prevent adverse pregnancy outcomes. We hypothesized that circulating levels of glucoregulatory adipokines were altered in women with GDM even in the first trimester of pregnancy and that therapeutic intervention might improve their adverse metabolic profiles along with impaired adipokine concentrations. To this end, we compared plasma concentrations of adiponectin, A-FABP, and FGF-19 in women with early-diagnosed GDM with those in healthy pregnant women and healthy non-pregnant controls and studied their changes during pregnancy.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design, Inclusion, and Exclusion Criteria

The study was undertaken as a case-control study in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki as revised in 2008. It was reviewed and approved by the Ethics Committee of Medical Faculty and University Hospital Olomouc (approval no. 120/17) and informed consent was obtained from all participants. The diagnosis of early GDM was based on repeated FPG levels ≥ 5.1 mmol/L and < 7.0 mmol/L during the first trimester (8–14 weeks) of pregnancy [1]. The exclusion criteria were having type 1 or type 2 diabetes, secondary or genetic types of diabetes, or a history of GDM. All pregnant women were enrolled in the first trimester and followed for the rest of the pregnancy until delivery. Healthy pregnant women had normal glucose levels throughout their pregnancy, including the OGTT at 24–28 weeks of gestation [1]. Non-pregnant age-matched controls comprised healthy women without a personal history of glucose intolerance or diabetes (including GDM or a history of delivering a high birth weight baby, i.e., ≥ 4.5 kg). All study participants had normal thyroid function.

Participants were asked about their personal and medical history. Their body mass index (BMI), waist circumference, and systolic and diastolic blood pressure (SBP and DBP) were also measured. The BMI was calculated as body weight/body height² (kg/m²).

Waist circumference was measured while standing, in the middle between the anterior iliac crest and the lower border of the ribs. Pregnant women (with or without GDM) were examined in the first (8–14 weeks), second (24–28 weeks), and third (34–38 weeks) trimesters. Weight, BMI, waist circumference, SBP, DBP, glucose, glycated hemoglobin A1C (HbA1C), and adipokine levels were checked at each visit. Early therapeutic intervention (nutrition therapy—diet containing 175 g of carbohydrate or 35% of a 2000-calorie intake, a minimum of 71 g of protein, and 28 g of fiber; monounsaturated and polyunsaturated fats were emphasized while saturated fats were limited, physical activity—30 min of exercise (medium intensity walking), 5 days/week, and weight controls) was introduced for women with GDM already during their first visit (in the first trimester). Some of them were also treated with insulin to achieve the glycemic target. The cut-off values for the introduction of insulin therapy were as follows: repeated FPG level >5.3 mmol/L; 1-h postprandial glucose level >7.8 mmol/L, or 2-h postprandial glucose level >6.7 mmol/L [13].

2.2. Laboratory Analyses

Venous blood samples were collected in the morning after a 12-h fast. Routine serum biochemical parameters (glucose, HbA1C, and C-peptide) were analyzed on the day of blood collection. Concentrations of adipokines were measured in sample aliquots stored at -80 °C for no longer than 6 months.

Glucose levels were determined using the hexokinase method (GLUC3, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) on the automated analyzer Cobas 8000 (Roche). Levels of HbA1C were measured by ion exchange chromatography using the Arkray Adams HA-8180V analyzer (Arkray Corporation, Kyoto, Japan). C-peptide levels were determined with a commercially available kit (Immunotech, Marseille, France) using an immunoradiometric assay with specific antibodies.

Adiponectin was determined with the immunochemistry kit Human Adiponectin ELISA (Biovendor Laboratory Medicine Inc., Brno, Czech Republic) according to the manufacturer's instructions. The antibodies used in this kit are specific for human adiponectin. The assay sensitivity was 26 ng/mL; the precision coefficients of variation (CVs) were 4.9% (intra-assay) and 6.7% (inter-assay).

Levels of A-FABP were assessed using the Human Adipocyte FABP4 ELISA kit (Biovendor Laboratory Medicine Inc.) according to the manufacturer's instructions. The antibodies used in this ELISA are specific for human A-FABP. The assay sensitivity was 0.08 ng/mL; the precision CVs were 2.5% (intra-assay) and 3.9% (inter-assay).

Levels of FGF-19 were obtained with Human FGF-19 ELISA (Biovendor Laboratory Medicine Inc.) according to the manufacturer's instructions. The antibodies used in this ELISA are specific for human FGF-19. The assay sensitivity was 4.8 pg/mL; the precision CVs were 6% (intra-assay) and 7.5% (inter-assay).

2.3. Statistical Analyses

All values were expressed as medians and interquartile ranges. Differences in variables between the groups were analyzed with the Mann–Whitney U-test. Differences between samples in individual trimesters were analyzed using the Wilcoxon signed-rank test. Analysis of covariates (ANCOVA) served to eliminate group differences in confounding factors. Spearman correlation analyses tested correlations between parameters in all groups. The Spearman coefficient (ρ) was used to express the value of correlation. Multivariate linear regression analyses were used for testing for independent associations between dependent and independent variables. Probability values of $p < 0.05$ were considered statistically significant. Statistica 14.0 software was used for statistical analyses.

3. Results

3.1. Baseline Clinical and Laboratory Parameters and Adipokine Levels in Individual Groups

A total of 23 pregnant women with early diagnosed GDM, 29 pregnant women without GDM, and 25 non-pregnant healthy controls met the eligibility criteria for this

study. In the first trimester, women with GDM had a significantly higher weight, BMI, waist circumference, FPG, HbA1C, and C-peptide levels compared to both pregnant women without GDM and non-pregnant healthy controls. Pregnant women without GDM had significantly higher waist circumference and C-peptide levels, but lower FPG and HbA1C levels compared to non-pregnant healthy controls.

Levels of adiponectin were significantly decreased and levels of A-FABP were significantly elevated in women with GDM compared to both pregnant women without GDM and non-pregnant healthy controls. In contrast, A-FABP levels were decreased in women without GDM compared to non-pregnant healthy controls. There were no significant differences in FGF-19 between the groups. See Table 1. ANCOVA analysis showed the same significant differences in adipokines between groups even after adjusting for BMI.

Table 1. Baseline clinical and laboratory parameters in individual groups.

| | Pregnant Women with GDM (n = 23) | Pregnant Women without GDM (n = 29) | Non-Pregnant Healthy Controls (n = 25) |
|------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------------|
| age (years) | 32.0 (27.1–36.2) | 30.0 (27.9–32.3) | 29.4 (26.6–33.0) |
| gestational age (weeks) | 11.1 (10.2–11.8) | 10.9 (9.9–11.6) | - |
| weight (kg) | 80.2 (72.3–88.9) ^{b,c} | 65.1 (61.3–74.9) ^a | 63.6 (59.9–67.6) ^a |
| BMI (kg/m ²) | 28.5 (25.4–32.8) ^{b,c} | 23.4 (20.4–25.1) ^a | 21.9 (20.3–23.9) ^a |
| waist (cm) | 96.3 (91.4–97.8) ^{b,c} | 80.5 (74.4–87.5) ^{a,c} | 75.5 (70.4–81.6) ^{a,b} |
| SBP (mmHg) | 121.9 (109.1–129.4) | 120.2 (111.5–127.4) | 117.1 (110.0–126.9) |
| DBP (mmHg) | 76.3 (67.2–81.6) | 78.0 (69.8–81.3) | 74.2 (69.0–80.6) |
| FPG (mmol/l) | 5.1 (4.9–5.3) ^{b,c} | 4.3 (4.1–4.4) ^{a,c} | 4.7 (4.5–4.8) ^{a,b} |
| HbA _{1c} (mmol/mol) | 32.3 (30.6–34.9) ^{b,c} | 30.0 (27.5–32.2) ^{a,c} | 31.0 (30.9–33.2) ^{a,b} |
| C-peptide (pmol/l) | 922.4 (533.5–1468.0) ^{b,c} | 602.1 (416.5–748.3) ^a | 510.5 (405.0–595.6) ^a |
| adiponectin (µg/mL) | 8.9 (7.2–11.1) ^{b,c} | 11.1 (9.8–13.4) ^a | 10.6 (9.3–12.6) ^a |
| A-FABP (ng/mL) | 28.6 (20.4–39.4) ^{b,c} | 13.7 (10.8–16.2) ^{a,c} | 20.3 (17.7–26.8) ^{a,b} |
| FGF-19 (pg/mL) | 182.2 (101.3–309.3) | 216.4 (131.7–350.5) | 266.6 (164.4–320.3) |

GDM = gestational diabetes mellitus; BMI = body mass index; SBP = systolic blood pressure; DBP = diastolic blood pressure; FPG = fasting plasma glucose; HbA_{1c} = glycated hemoglobin A1C; A-FABP = adipocyte fatty acid-binding protein; FGF-19 = fibroblast growth factor-19. Values are expressed as the median (25 and 75 percentile). Significant differences ($p < 0.05$) according to the Mann–Whitney U-test: ^a = vs. women with GDM; ^b = vs. women without GDM; ^c = vs. healthy controls.

3.2. Changes in Selected Clinical Parameters, Glucose Control, and Adipokines during Pregnancy

Changes in selected clinical parameters, glucose control, and adipokines during pregnancy are shown in Table 2. Lifestyle and behavioral changes were recommended to all patients with GDM during their first visit, with 30% of them (7 of 23) being treated with insulin (insulin therapy was initiated at a median of 15 [14–17] weeks). Because of the

early therapy for GDM, there were no significant differences in weight, BMI, and HbA1C between women with and without GDM during the second and third trimesters compared to the first trimester. While women without GDM gradually increased their weight and BMI throughout their pregnancy, those with GDM showed a significant rise in their weight and BMI only in the third trimester. Those with GDM showed significantly higher waist circumference in the second trimester and higher fasting glucose levels only in the third trimester compared to women without GDM. As in the first trimester, no significant differences in SBP and DBP were found in the second and third trimesters.

Table 2. Changes in selected clinical parameters, glucose control, and adipokines during pregnancy in women with and without GDM.

| | | First Trimester (8–12 Weeks) | Second Trimester (24–28 Weeks) | Third Trimester (34–38 Weeks) |
|---------------------------------|------|---------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| weight (kg) | GDM+ | 80.2 (72.3–88.9) | 77.5 (68.0–93.9) ^c | 82.0 (77.2–90.0) ^b |
| | GDM– | 65.1 (61.3–74.9) ^{b,c} | 77.0 (71.2–82.2) ^{a,c} | 83.2 (74.7–90.5) ^{a,b} |
| BMI (kg/m ²) | GDM+ | 28.5 (25.4–32.8) | 27.5 (23.7–32.4) ^c | 27.4 (25.8–33.8) ^b |
| | GDM– | 23.4 (20.4–25.1) ^{b,c} | 25.9 (23.6–28.0) ^{a,c} | 28.5 (25.1–31.0) ^{a,b} |
| waist (cm) | GDM+ | 96.3 (91.4–97.8) ^c | 104.5 (98.3–110.1) ^c | 108.3 (103.2–114.4) ^{a,b} |
| | GDM– | 80.5 (74.4–87.5) ^{b,c} | 96.0 (90.2–102.5) ^{a,c} | 106.1 (98.7–114.5) ^{a,b} |
| SBP (mm Hg) | GDM+ | 121.9 (109.1–129.4) | 120.0 (112.5–129.6) | 123.8 (117.3–132.1) |
| | GDM– | 120.2 (111.5–127.4) | 118.1 (108.9–120.4) | 121.2 (114.0–130.5) |
| DBP (mm Hg) | GDM+ | 76.3 (67.2–81.6) | 73.2 (69.5–76.5) ^c | 82.1 (74.7–85.3) ^b |
| | GDM– | 78.0 (69.8–81.3) | 71.2 (64.9–75.1) | 77.5 (88.0–81.0) |
| FPG (mmol/L) | GDM+ | 5.1 (4.9–5.3) ^b | 4.5 (4.4–5.0) ^a | 4.8 (4.3–5.3) |
| | GDM– | 4.3 (4.1–4.4) | 4.2 (4.0–4.9) | 4.4 (4.1–4.5) |
| HbA _{1c} (mmol/mol) | GDM+ | 32.3 (30.6–34.9) ^c | 31.0 (30.2–33.1) ^c | 36.0 (32.0–38.5) ^{a,b} |
| | GDM– | 30.0 (27.5–32.2) ^c | 29.5 (28.1–31.0) ^c | 33.3 (31.0–34.2) ^{a,b} |
| adiponectin (µg/mL) | GDM+ | 8.9 (7.2–11.1) | 8.9 (7.7–10.3) | 9.0 (7.3–10.7) |
| | GDM– | 11.1 (9.8–13.4) ^c | 10.2 (7.2–13.5) | 9.1 (8.0–12.1) ^a |
| A-FABP (ng/mL) | GDM+ | 28.6 (20.4–39.4) ^{b,c} | 21.8 (12.8–26.2) ^a | 23.8 (19.4–30.1) ^a |
| | GDM– | 13.7 (10.8–16.2) ^c | 14.3 (11.0–18.0) ^c | 22.4 (13.4–29.3) ^{a,b} |
| FGF-19 (pg/mL) | GDM+ | 182.2 (101.3–309.3) | 210.1 (104.6–360.0) | 193.1 (105.1–250.4) |
| | GDM– | 216.4 (131.7–350.5) | 192.0 (139.6–289.3) | 205.5 (87.4–302.0) |

GDM = gestational diabetes mellitus; BMI = body mass index; SBP = systolic blood pressure; DBP = diastolic blood pressure; FPG = fasting plasma glucose; HbA_{1c} = glycated hemoglobin A1C; A-FABP = adipocyte fatty acid-binding protein; FGF-19 = fibroblast growth factor-19. Values are expressed as the median (25 and 75 percentile). Significant differences ($p < 0.05$) according to the Wilcoxon signed-rank test: ^a = vs. 1st trimester; ^b = vs. 2nd trimester; ^c = vs. 3rd trimester or significant differences according to the Mann–Whitney U-test: = women with GDM ($n = 23$) vs. women without GDM ($n = 29$).

Changes in adipokines reflected changes in body weight and BMI, see Table 2 and Figure 1. Adiponectin concentrations remained almost unchanged in the GDM group but dropped significantly in controls without GDM. As a result, there were no significant differences in adiponectin levels between the groups (GDM+ vs. GDM–) during the second and third trimesters. A-FABP decreased in women with GDM and increased in those without GDM during pregnancy. Thus, A-FABP was significantly higher in patients with GDM only in the second trimester while it did not differ between the groups in the third trimester (GDM+ vs. GDM–). No significant changes in FGF-19 were detected in both groups during pregnancy. FGF-19 levels did not significantly differ between the groups (GDM+ vs. GDM–) throughout the study.

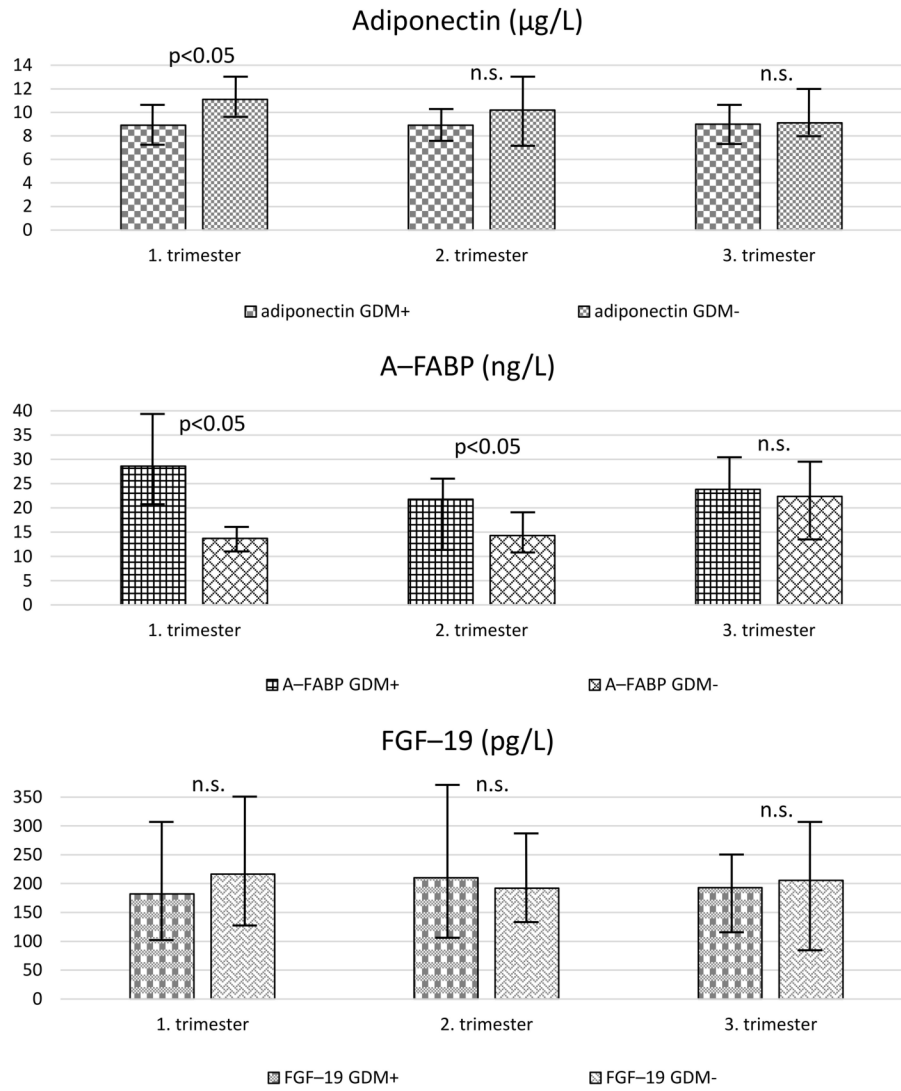


Figure 1. Levels of adipokines in different groups. GDM = gestational diabetes mellitus; A-FABP = adipocyte fatty acid-binding protein; FGF-19 = fibroblast growth factor-19. Values are expressed as medians (boxes) and interquartile ranges (whiskers).

3.3. Relationship of Adipokines to Clinical and Laboratory Parameters

Univariate correlation analyses of baseline data were performed in all pregnant women ($n = 52$). Adiponectin was significantly inversely ($p < 0.05$) correlated with body weight ($\rho = -0.34$), BMI ($\rho = -0.39$), waist circumference ($\rho = -0.31$), FPG ($\rho = -0.38$), and HbA1C ($\rho = -0.23$). A-FABP was positively correlated with body weight ($\rho = 0.55$), BMI ($\rho = 0.52$), waist circumference ($\rho = 0.53$), SBP ($\rho = 0.17$), FPG ($\rho = 0.46$), and HbA1C ($\rho = 0.42$). FGF-19 was inversely correlated with body weight ($\rho = -0.23$), BMI ($\rho = -0.20$), SBP ($\rho = -0.39$), and DBP ($\rho = -0.32$). There was also a significant inverse correlation between adiponectin and A-FABP levels ($\rho = -0.18$). FGF-19 was correlated with neither adiponectin nor A-FABP.

Table 3 shows the results of a multivariate regression analysis of independent factors affecting adiponectin, A-FABP, and FGF-19 as dependent variables based on data from all three trimesters in all pregnant women ($n = 52$). Adiponectin was independently associated with waist circumference and HbA_{1C}; A-FABP with weight, SBP, and fasting glucose; and FGF-19 with SBP only.

Table 3. Multivariate linear regression analysis of independent factors affecting adiponectin, adipocyte fatty acid-binding protein, and fibroblast growth factor-19 as dependent variables.

| Adiponectin | | | | | | |
|--------------------------------------|-----------------------------|-----------|---------------------------|-----------|----------|-------|
| | Unstandardized coefficients | | Standardized coefficients | | <i>t</i> | Sig. |
| | <i>B</i> | <i>SE</i> | <i>Beta</i> | <i>SE</i> | | |
| weight | 0.259 | 0.464 | 0.034 | 0.061 | 0.558 | 0.578 |
| BMI | −0.621 | 0.418 | −0.236 | 0.159 | −1.486 | 0.140 |
| waist | 0.672 | 0.327 | 0.074 | 0.036 | 2.058 | 0.041 |
| FPG | 0.093 | 0.226 | 0.211 | 0.511 | 0.414 | 0.680 |
| HbA _{1C} | 0.530 | 0.257 | 0.175 | 0.085 | 2.065 | 0.046 |
| Adipocyte-fatty acid binding protein | | | | | | |
| | Unstandardized coefficients | | Standardized coefficients | | <i>t</i> | Sig. |
| | <i>B</i> | <i>SE</i> | <i>Beta</i> | <i>SE</i> | | |
| weight | 1.056 | 0.497 | 0.313 | 0.148 | 2.124 | 0.035 |
| BMI | 0.168 | 0.447 | 0.144 | 0.382 | 0.377 | 0.707 |
| waist | −0.191 | 0.370 | −0.047 | 0.091 | −0.515 | 0.607 |
| FPG | 0.760 | 0.246 | 3.860 | 1.251 | 3.087 | 0.002 |
| HbA _{1C} | 0.332 | 0.293 | 0.246 | 0.217 | 1.134 | 0.259 |
| SBP | 1.210 | 0.287 | 0.240 | 0.057 | 4.214 | 0.000 |
| Fibroblast growth factor-19 | | | | | | |
| | Unstandardized coefficients | | Standardized coefficients | | <i>t</i> | Sig. |
| | <i>B</i> | <i>SE</i> | <i>Beta</i> | <i>SE</i> | | |
| weight | 0.200 | 0.916 | 0.895 | 4.107 | 0.218 | 0.828 |
| BMI | −0.242 | 0.879 | −3.123 | 1.340 | −0.275 | 0.783 |
| SBP | 0.722 | 0.753 | 2.157 | 2.250 | 0.959 | 0.039 |
| DBP | −0.015 | 0.666 | −0.072 | 3.146 | −0.023 | 0.982 |

BMI = body mass index; SBP = systolic blood pressure; DBP = diastolic blood pressure; FPG = fasting plasma glucose; HbA_{1C} = glycated hemoglobin A1C.

4. Discussion

The present study demonstrated that women with early diagnosed GDM had significantly decreased concentrations of adiponectin and increased concentrations of A-FABP compared to pregnant women without GDM or non-pregnant healthy controls. Both adipokines correlated with visceral adiposity and glucose control. A-FABP was inversely correlated with adiponectin and both adipokines were associated with markers of visceral adiposity and glucose control. Multivariate regression analysis showed independent associations between adiponectin and waist and HbA_{1C}, as well as between A-FABP and weight, SBP, and fasting glucose levels. Importantly, the introduction of early therapeutic intervention was associated with the shifting of circulating concentrations of these adipokines to levels comparable with those in healthy pregnant women.

In previous studies, adiponectin levels were found to be lower in women with GDM; additionally, hypoadiponectinemia in early pregnancy could be considered a predictive

marker for GDM development [14–18]. A meta-analysis comprising 2865 pregnant women showed that pre-pregnancy and early pregnancy measurements of circulating adiponectin may improve the identification of women at high risk for developing GDM [19]. First trimester adiponectin concentrations had a pooled sensitivity of 60.3%, a specificity of 81.3%, and a diagnostic odds ratio of 6.6 for GDM prediction. However, there are also some conflicting findings. For example, Ebert et al. reported that adiponectin concentrations were lower in pregnant women compared to non-pregnant women but were not affected by GDM presence [20]. Discrepancies between studies may be due to different diagnostic criteria, population characteristics, pregnancy rates, and the application of treatment measures. Decreased adiponectin expression during pregnancy is thought to increase insulin resistance, leading to decreased glucose uptake. In the case of GDM, pancreatic cell dysfunction is unable to overcome insulin resistance, resulting in hyperglycemia [8]. The independent association between adiponectin and HbA1C in our study highlights the possible role of adiponectin in glucose control. The present study also shows that early implementation of lifestyle interventions not only attenuated weight gain but also prevented further decreases in adiponectin levels during pregnancy in women with GDM, shifting their adiponectin concentrations in the third trimester to levels similar to those seen in healthy pregnant women.

Several studies have found significantly elevated A-FABP in women with GDM [21–29], with some authors finding that elevated circulating A-FABP levels during the first trimester were associated with a higher risk of developing GDM [27,28]. Zhang et al. reported a trend toward increasing A-FABP levels in the second to the third trimester in patients with GDM [23]. We found this tendency in healthy pregnant women as well. A-FABP is secreted by adipocytes and is also released from the placenta in pregnant women [30]. Circulating levels of A-FABP are associated with lipolysis and rise due to insulin resistance during pregnancy. A-FABP overexpression in the placenta and decidua in GDM is stimulated by the action of placental lactogen, progesterone, and the synergistic effect of estrogen and progesterone whose levels are steadily elevated until delivery [29]. Early introduction of lifestyle interventions and appropriate GDM treatment was associated with a reduction in A-FABP in our study. Therefore, there were no significant differences between healthy pregnant women and patients with GDM in the third trimester. The independent associations between A-FABP and weight, fasting glucose, and SBP once again point to the role of insulin resistance in the development of GDM and its complications. A-FABP contributes not only to impaired glucose control but also to the development of gestational hypertension and preeclampsia [31]. Therefore, early GDM diagnosis and treatment are also important in preventing these complications.

Unlike some previous studies, we found no significant differences in FGF-19 between GDM patients and healthy pregnant controls throughout all trimesters. Wang et al. reported decreased circulating levels of FGF-19 in women with GDM diagnosed at 24–28 weeks of gestation [32]. There was also reduced placental and muscular expression of FGF-19 in women with GDM after delivery [33]. In contrast, a recent study found plasma concentrations of FGF-19 in the umbilical cord similar to those in healthy pregnant controls, suggesting that GDM does not affect fetal FGF-19 levels [34]. Wang et al. also demonstrated an independent and inverse association between FGF-19 and insulin resistance in GDM [32]. In our study, FGF-19 was inversely correlated with body weight, BMI, SBP, and DBP. In multiple regression analysis, however, it was independently associated with only SBP. We hypothesize that lifestyle interventions introduced to women with early-diagnosed GDM to avoid weight gain and increased insulin resistance could have prevented significant reductions in FGF-19 levels in the second and third trimesters. This may explain why there were no differences between GDM women and healthy controls during pregnancy. This finding supports the correlations of FGF-19 with body weight and BMI. The independent association between FGF-19 and SBP may thus suggest a role of FGF-19 in gestational hypertension, but this potential relationship needs to be elucidated in further studies.

One limitation of this study is the focus on a group of women with early diagnosed GDM only. Of course, there are women with normal glucose levels during the first trimester and diagnosed with GDM following an OGTT at 24–28 weeks of pregnancy; these make up the majority of GDM cases. Since varied manifestations of GDM may stem from different pathophysiological mechanisms (insulin resistance versus impaired insulin secretion), adipokine production may also differ for various GDM phenotypes. All women with GDM in our study were intervened early which could have affected their natural course of changes in adipokine levels (i.e., without intervention). Moreover, about a third of women in the GDM group were treated with insulin, potentially modifying the regulation of the above protein production. Finally, the study did not include a control group of women with GDM who had not undergone therapeutic intervention, therefore conclusion on the effect of the intervention is rather limited. The strength of this study lies in its prospective nature and longitudinal monitoring of adipokines levels, including the potential impact of early therapeutic interventions.

5. Conclusions

Women with GDM showed altered adipokine production already in the first trimester of pregnancy. They had increased A-FABP and decreased adiponectin levels correlating with visceral adiposity and glucose control. Early diagnosis of GDM necessitating the introduction of lifestyle interventions and early treatment was associated not only with the prevention of weight gain but also normalization of adipokines to levels similar to those in healthy pregnant controls. These findings support the importance of GDM screening in the early stages of pregnancy and the possible role of endocrine dysfunction of adipose tissue in the development of gestational diabetes.

Author Contributions: Conceptualization, D.K., M.H. and O.K.; methodology, D.K.; validation, D.K. and O.K.; formal analysis, D.K.; investigation, O.K., V.K., D.M., L.C. and J.S.; data curation, D.K.; writing—original draft preparation, D.K. and M.H.; writing—review and editing, D.K. and M.H.; visualization, D.K.; supervision, D.K.; funding acquisition, D.K. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Ministry of Health of the Czech Republic, NV18-01-00139, MZ CR-RVO (FNOI, 00098892), and IGA LF 2022 003.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics Committee of Medical Faculty and University Hospital Olomouc (approval no. 120/17).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups Consensus Panel; Metzger, B.E.; Gabbe, S.G.; Persson, B.; Buchanan, T.A.; Catalano, P.A.; Damm, P.; Dyer, A.R.; Leiva, A.; Hod, M.; et al. International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. *Diabetes Care* **2010**, *33*, 676–682. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Riskin-Mashiah, S.; Younes, G.; Damti, A.; Auslender, R. First-trimester fasting hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *Diabetes Care* **2009**, *32*, 1639–1643. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Raets, L.; Beunen, K.; Benhalima, K. Screening for Gestational Diabetes Mellitus in Early Pregnancy: What Is the Evidence? *J. Clin. Med.* **2021**, *10*, 1257. [[CrossRef](#)]
4. Kühl, C. Insulin secretion and insulin resistance in pregnancy and GDM. Implications for diagnosis and management. *Diabetes* **1991**, *40* (Suppl. 2), 18–24. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Trivett, C.; Lees, Z.J.; Freeman, D.J. Adipose tissue function in healthy pregnancy, gestational diabetes mellitus and pre-eclampsia. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2021**, *75*, 1745–1756. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Yanai, H.; Yoshida, H. Beneficial Effects of Adiponectin on Glucose and Lipid Metabolism and Atherosclerotic Progression: Mechanisms and Perspectives. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 1190. [[CrossRef](#)]
7. Furuhashi, M. Fatty Acid-Binding Protein 4 in Cardiovascular and Metabolic Diseases. *J. Atheroscler. Thromb.* **2019**, *26*, 216–232. [[CrossRef](#)]

8. Pheiffer, C.; Dias, S.; Jack, B.; Malaza, N.; Adam, S. Adiponectin as a Potential Biomarker for Pregnancy Disorders. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 1326. [[CrossRef](#)]
9. Nguyen, H.C.; Qadura, M.; Singh, K.K. Role of the Fatty Acid Binding Proteins in Cardiovascular Diseases: A Systematic Review. *J. Clin. Med.* **2020**, *9*, 3390. [[CrossRef](#)]
10. Hotamisligil, G.S.; Johnson, R.S.; Distel, R.J.; Ellis, R.; Papaioannou, V.E.; Spiegelman, B.M. Uncoupling of obesity from insulin resistance through a targeted mutation in aP2, the adipocyte fatty acid binding protein. *Science* **1996**, *274*, 1377–1379. [[CrossRef](#)]
11. Kir, S.; Beddow, S.A.; Samuel, V.T.; Miller, P.; Previs, S.F.; Suino-Powell, K.; Xu, H.E.; Shulman, G.I.; Kliewer, S.A.; Mangelsdorf, D.J. FGF19 as a postprandial, insulin-independent activator of hepatic protein and glycogen synthesis. *Science* **2011**, *331*, 1621–1624. [[CrossRef](#)]
12. Struik, D.; Dommerholt, M.B.; Jonker, J.W. Fibroblast growth factors in control of lipid metabolism: From biological function to clinical application. *Curr. Opin. Lipidol.* **2019**, *30*, 235–243. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Metzger, B.E.; Buchanan, T.A.; Coustan, D.R.; de Leiva, A.; Dunger, D.B.; Hadden, D.R.; Hod, M.; Kitzmiller, J.L.; Kjos, S.L.; Oats, J.N.; et al. Summary and recommendations of the Fifth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* **2007**, *30* (Suppl. 2), S251–S260. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Bao, W.; Baecker, A.; Song, Y.; Kiely, M.; Liu, S.; Zhang, C. Adipokine levels during the first or early second trimester of pregnancy and subsequent risk of gestational diabetes mellitus: A systematic review. *Metabolism* **2015**, *64*, 756–764. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Lacroix, M.; Battista, M.C.; Doyon, M.; Ménard, J.; Ardilouze, J.L.; Perron, P.; Hivert, M.F. Lower adiponectin levels at first trimester of pregnancy are associated with increased insulin resistance and higher risk of developing gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care* **2013**, *36*, 1577–1583. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Xu, J.; Zhao, Y.H.; Chen, Y.P.; Yuan, X.L.; Wang, J.; Zhu, H.; Lu, C.M. Maternal circulating concentrations of tumor necrosis factor-alpha, leptin, and adiponectin in gestational diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Sci. World J.* **2014**, *2014*, 926932. [[CrossRef](#)]
17. Thagaard, I.N.; Krebs, L.; Holm, J.C.; Lange, T.; Larsen, T.; Christiansen, M. Adiponectin and leptin as first trimester markers for gestational diabetes mellitus: A cohort study. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2017**, *55*, 1805–1812. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Karasek, D.; Krystynik, O.; Goldmannova, D.; Cibickova, L.; Schovaneck, J. Circulating levels of selected adipokines in women with gestational diabetes and type 2 diabetes. *J. Appl. Biomed.* **2020**, *18*, 54–60. [[CrossRef](#)]
19. Iliodromiti, S.; Sassarini, J.; Kelsey, T.W.; Lindsay, R.S.; Sattar, N.; Nelson, S.M. Accuracy of circulating adiponectin for predicting gestational diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Diabetologia* **2016**, *59*, 692–699. [[CrossRef](#)]
20. Ebert, T.; Gebhardt, C.; Scholz, M.; Schleinitz, D.; Blüher, M.; Stumvoll, M.; Kovacs, P.; Fasshauer, M.; Tönjes, A. Adipocytokines are not associated with gestational diabetes mellitus but with pregnancy status. *Cytokine* **2020**, *131*, 155088. [[CrossRef](#)]
21. Kralisch, S.; Stepan, H.; Kratzsch, J.; Verlohren, M.; Verlohren, H.J.; Drynda, K.; Lössner, U.; Blüher, M.; Stumvoll, M.; Fasshauer, M. Serum levels of adipocyte fatty acid binding protein are increased in gestational diabetes mellitus. *Eur. J. Endocrinol.* **2009**, *160*, 33–38. [[CrossRef](#)]
22. Ortega-Senovilla, H.; Schaefer-Graf, U.; Meitzner, K.; Abou-Dakn, M.; Graf, K.; Kintscher, U.; Herrera, E. Gestational diabetes mellitus causes changes in the concentrations of adipocyte fatty acid-binding protein and other adipocytokines in cord blood. *Diabetes Care* **2011**, *34*, 2061–2066. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Zhang, Y.; Zhang, H.H.; Lu, J.H.; Zheng, S.Y.; Long, T.; Li, Y.T.; Wu, W.Z.; Wang, F. Changes in serum adipocyte fatty acid-binding protein in women with gestational diabetes mellitus and normal pregnant women during mid- and late pregnancy. *J. Diabetes Investig.* **2016**, *7*, 797–804. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Patro-Małyśza, J.; Trojnar, M.; Kimber-Trojnar, Ż.; Mierzyński, R.; Bartosiewicz, J.; Oleszczuk, J.; Leszczyńska-Gorzelać, B. FABP4 in Gestational Diabetes-Association between Mothers and Offspring. *J. Clin. Med.* **2019**, *8*, 285. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Kimber-Trojnar, Ż.; Patro-Małyśza, J.; Trojnar, M.; Skórzyńska-Dziduszko, K.E.; Bartosiewicz, J.; Oleszczuk, J.; Leszczyńska-Gorzelać, B. Fatty Acid-Binding Protein 4-An “Inauspicious” Adipokine-In Serum and Urine of Post-Partum Women with Excessive Gestational Weight Gain and Gestational Diabetes Mellitus. *J. Clin. Med.* **2018**, *7*, 505. [[CrossRef](#)]
26. Mosavat, M.; Mirsanjari, M.; Lwaleed, B.A.; Kamarudin, M.; Omar, S.Z. Adipocyte-Specific Fatty Acid-Binding Protein (AFABP) and Chemerin in Association with Gestational Diabetes: A Case-Control Study. *J. Diabetes Res.* **2021**, *2021*, 5533802. [[CrossRef](#)]
27. Tu, W.J.; Guo, M.; Shi, X.D.; Cai, Y.; Liu, Q.; Fu, C.W. First-Trimester Serum Fatty Acid-Binding Protein 4 and Subsequent Gestational Diabetes Mellitus. *Obstet. Gynecol.* **2017**, *130*, 1011–1016. [[CrossRef](#)]
28. Jin, C.; Lin, L.; Han, N.; Zhao, Z.; Xu, X.; Luo, S.; Liu, J.; Wang, H. Risk of Gestational Diabetes Mellitus in relation to Plasma Concentrations of Fatty Acid-Binding Protein 4: A Nested Case-Control Study in China. *J. Diabetes Res.* **2021**, *2021*, 6681432. [[CrossRef](#)]
29. Sun, J.; Zhang, D.; Xu, J.; Chen, C.; Deng, D.; Pan, F.; Dong, L.; Li, S.; Ye, S. Circulating FABP4, nesfatin-1, and osteocalcin concentrations in women with gestational diabetes mellitus: A meta-analysis. *Lipids Health Dis.* **2020**, *19*, 199. [[CrossRef](#)]
30. Li, L.; Lee, S.J.; Kook, S.Y.; Ahn, T.G.; Lee, J.Y.; Hwang, J.Y. Serum from pregnant women with gestational diabetes mellitus increases the expression of FABP4 mRNA in primary subcutaneous human pre-adipocytes. *Obstet. Gynecol. Sci.* **2017**, *60*, 274–282. [[CrossRef](#)]
31. Daskalakis, G.; Bellos, I.; Nikolakea, M.; Pergialiotis, V.; Papapanagiotou, A.; Loutradis, D. The role of serum adipokine levels in preeclampsia: A systematic review. *Metabolism* **2020**, *106*, 154172. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

32. Wang, D.; Zhu, W.; Li, J.; An, C.; Wang, Z. Serum concentrations of fibroblast growth factors 19 and 21 in women with gestational diabetes mellitus: Association with insulin resistance, adiponectin, and polycystic ovary syndrome history. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e81190. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Wang, D.; Xu, S.; Ding, W.; Zhu, C.; Deng, S.; Qiu, X.; Wang, Z. Decreased placental and muscular expression of the fibroblast growth factor 19 in gestational diabetes mellitus. *J. Diabetes Investig.* **2019**, *10*, 171–181. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Yang, M.N.; Huang, R.; Liu, X.; Xu, Y.J.; Wang, W.J.; He, H.; Zhang, G.H.; Zheng, T.; Fang, F.; Fan, J.G.; et al. Fibroblast Growth Factor 19 in Gestational Diabetes Mellitus and Fetal Growth. *Front. Endocrinol.* **2022**, *12*, 805722. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]