

**A DPP4 enzimaktivitás és a GLP-1 hormonszintjének vizsgálata gesztációs diabetes mellitusszal szövődött terhességből született újszülöttekben, valamint egyes gyakori anyai génvariánsok szerepe**

Doktori értekezés

**Dr. Al-Aissa Zahra**

Semmelweis Egyetem

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Firneisz Gábor Ph.D., tudományos főmunkatárs

Hivatalos bírálók: Dr. Tőke Judit Ph.D., egyetemi tanársegéd

Dr. Szaleczky Erika Ph.D., osztályvezető helyettes főorvos

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Kalabay László Ph.D., egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Farkas Klára Ph.D., adjunktus

Dr. Nagy Gyula Richárd Ph.D., egyetemi adjunktus

Budapest

2018

## Tartalomjegyzék

<b>Rövidítések jegyzéke</b> .....	7-10
<b>1. Bevezetés, irodalmi háttér</b> .....	<b>11</b>
1.1. A diabetes előfordulási gyakorisága és jelentősége .....	11
1.2. A diabetes hatása a gazdaságra .....	12
1.3. A szénhidrátanyagcsere-zavarok kóroktani osztályozása .....	12-13
1.3.1. A 2-es típusú diabetes mellitus (T2DM) .....	13-15
1.3.2. Egyéb diabetes formák .....	15-16
1.3.3. Anyagcsere változások diabetes mellitusban .....	16
1.3.4. A diabetes mellitus szövődményei .....	17-18
1.4. Gesztációs diabetes mellitus (GDM) .....	19-20
1.4.1. GDM előfordulási gyakorisága .....	21-22
1.4.2. GDM kockázati tényezői .....	22
1.4.2.1. Módosítható kockázati tényezők .....	22-24
1.4.2.2. a) Nem módosítható kockázati tényezők .....	24-25
1.4.2.2. b) A genetikai tényezők szerepe általában a GDM kialakulásában .....	25-28
1.4.2.2. c) Az <i>MTNR1B</i> gén polimorfizmusainak szerepe a különböző diabeteses kórfarmák, a béta-sejt diszfunkció és a korai inzulinválasz károsodás kialakulásában .....	29-31
1.4.3. A GDM diagnózisának és szűrésének lehetőségei és a jelenleg érvényben lévő ajánlások .....	31-34
1.4.3.1. Egészségügyi Világszervezet (WHO) ajánlása .....	34-35
1.4.3.2. Hyperglycemia and Pregnancy Outcome (HAPO) vizsgálat, International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG) Konszenzus Panel ajánlása .....	35-37
1.4.3.3. Amerikai Diabetes Társaság (ADA) ajánlása .....	37-38
1.4.3.4. Egyesült Királyság Egészség és Klinikai Kiválóság Nemzeti Intézetének (National Institute	

for Health and Clinical Excellence, NICE) ajánlása .....	38-39
1.4.3.5. Magyar Diabetes Társaság (MDT) Diabetesszel Társuló Terhességgel Foglalkozó Munkacsoport ajánlása .....	39-40
1.4.4. A GDM szövődményei .....	41
1.4.4.1. Perinatalis és anyai szövődmények.....	41
1.4.4.1.1. Macrosomia (90 percentilis feletti születési testtömeg) .....	41
1.4.4.1.2. Császármetszés .....	42
1.4.4.1.3. Magzati hyperinsulinaemia és neonatalis hypoglykaemia .....	42-43
1.4.4.1.4. Koraszülés .....	43
1.4.4.1.5. Polycytaemia .....	43-44
1.4.4.1.6. Hyperbilirubinaemia .....	44
1.4.4.1.7. 90 percentilis feletti bőrredővastagság .....	45
1.4.4.1.8. 90 percentilis feletti testzsírszázalék .....	45
1.4.4.1.9. Újszülöttkori intenzívterápiás ellátás .....	45
1.4.4.1.10. Preeclampsia .....	45
1.4.4.1.11. 10 percentilis alatti születési súly .....	46
1.4.4.2. Egyéb szövődmények .....	46-47
1.4.5. GDM kezelése .....	48
1.4.5.1. Diéta .....	48-49
1.4.5.2. Testmozgás .....	49-50
1.4.5.3. Gyógyszeres lehetőségek .....	50-51
1.5. Az enteroinzuláris tengely jelentősége a szénhidrát-anyagcsere folyamatának szabályozásában .....	52
1.5.1. Az enterohormonok és szerepük a szénhidrát-anyagcsere folyamatban. Az inkretinek .....	52-53
1.5.2. A DPP4 szerepe .....	54
1.5.2.1. A DPP4 fehérje .....	54-55

1.5.2.2. A DPP4 biológiai szerepe .....	55
1.5.2.3. A DPP4 szerepe a szénhidrát-anyagcserében .....	56
1.5.3. A GLP-1 hormon szerepe .....	56-57
1.5.4. A GIP hormon élettani szerepe .....	57
<b>2. Célkitűzések .....</b>	<b>58</b>
I. DPP4-inkretin rendszer vizsgálata GDM és kontroll (75 g OGTT során normális szénhidrát anyagcseréjű) terhességből született újszülöttekben .....	58
II. MTNR1B rs10830963 anyai génvariáns szerepének vizsgálata GDM-ben .....	58
<b>3. Módszerek .....</b>	<b>59</b>
I. Köldökzsinór DPP4 szérumaktivitás és aktív GLP-1 <sup>7-36</sup> plazmaszint vizsgálata GDM és nem GDM terhességből született egyénekben .....	59
3.1.1. Vizsgálatba bevont személyek .....	59
3.1.2. GDM diagnózisa és kontroll csoport .....	59-60
3.1.3. Mintavételi módszerek .....	60-61
3.1.4. Rutin klinikai paraméterek meghatározásának módszerei .....	61
3.1.4.1. Laborparaméterek meghatározása .....	61
3.1.4.2. Újszülöttek percentiliseinek számolása .....	61
3.1.4.3. Anyai és újszülött klinikai paraméterek .....	62
3.1.5. DPP4 szérum enzimaktivitás meghatározása .....	63
3.1.6. GLP-1 <sup>7-36</sup> plazma koncentrációk mérése .....	63-64
3.1.7. Statisztikai értékelő módszerek .....	64-65
II. <i>MTNR1B</i> rs10830963 génvariáns vizsgálata .....	66
3.2.1. Vizsgálatba bevont személyek .....	66
3.2.2. DNS izolálási technika .....	66
3.2.3. Az <i>MTNR1B</i> genotipizálás .....	67
3.2.4. Statisztikai értékelő módszerek .....	67-68
<b>4. Eredmények .....</b>	<b>69</b>
I. Köldökzsinór DPP4 szérumaktivitás és aktív GLP-1 <sup>7-36</sup> plazmaszint vizsgálat .....	69

4.1.1. Bevont betegek és újszülöttek klinikai jellemzői .....	69
4.1.1.1. Maternalis eredmények .....	69
4.1.1.1.1. Éhomi és 120. perces vércukorérték .....	69
4.1.1.1.2. BMI .....	69
4.1.1.1.3. Átlagéletkor .....	69
4.1.1.1.4. HbA <sub>1c</sub> .....	69-70
4.1.1.1.5. Terhességi hét a szüléskor .....	71
4.1.1.2. Újszülött eredmények .....	71
4.1.1.2.1. LGA, AGA és SGA újszülöttek aránya a kontroll és a GDM csoportban .....	71
4.1.1.2.2. C-peptid .....	72
4.1.2. Köldökzsínórvér szérumban DPP4 aktivitás .....	72-74
4.1.3. Köldökzsínórvér GLP-1 plazma szintek .....	74
II. <i>MTNR1B</i> rs10830963 maternalis genotipizálás eredményei .....	75
4.2.1. Genetikai vizsgálatba bevont terhesek jellemzői .....	75
4.2.1.1. Éhomi és 120. perces vércukorérték .....	75
4.2.1.2. BMI .....	76
4.2.1.3. Átlagéletkor .....	76
4.2.1.4. HbA <sub>1c</sub> .....	76
4.2.2. <i>MTNR1B</i> rs10830963 maternalis genotipizálás eredményei .....	77
4.2.2.1. Az <i>MTNR1B</i> rs10830963/G kockázati allél asszociációja a GDM kialakulásával (mint bináris jelleggel) a nemzetközi eset-kontroll vizsgálatban .....	77-80
4.2.2.2. Az <i>MTNR1B</i> rs10830963/G kockázati allél asszociációja a standard időpontban végzett 75g OGTT plazma glükóz értékekkel terhesekben .....	80
<b>5. Megbeszélés .....</b>	<b>81</b>
I. Köldökzsínórvér szérumban DPP4 enzimaktivitás és aktív GLP-1 <sup>7-36</sup> plazma meghatározása GDM és nem diabeteses újszülöttekben .....	81-86
II. <i>MTNR1B</i> rs10830963 variánsának maternalis vizsgálata .....	86-91
<b>6. Következtetések .....</b>	<b>92</b>

I. Köldökzsínór DPP4 szérumbenzimaktivitás és aktív GLP-1 <sup>7-36</sup> plazmaszint vizsgálata .....	92
II. <i>MTNR1B</i> rs10830963 maternális genotipizálás eredményei .....	93
<b>7. Összefoglalás .....</b>	<b>94</b>
<b>8. Summary .....</b>	<b>95</b>
<b>9. Irodalomjegyzék .....</b>	<b>96-116</b>
<b>10. Saját publikációk jegyzéke .....</b>	<b>117</b>
<b>11. Köszönetnyilvánítás .....</b>	<b>118</b>

**Rövidítések jegyzéke**

ADA	Amerikai Diabetes Társaság (American Diabetes Association)
ADCP2	Adenosine-desaminase complexing protein 2
AGA	Gesztációs kornak megfelelő születési súly (Appropriate for gestational age)
AT	Ausztriai terhes populáció
BMI	Testtömegindex (Body Mass Index)
Bi	Bilirubin
CD26	Cluster of differentiation 26
CDK5	Ciklin-függő kináz 5
CI	Konfidencia intervallum
DCCT	Diabetes Control and Complications Trial
DI	Disposition index
DKA	Diabeteses ketoacidosis
DPP4	Dipeptidyl peptidáz-4 enzim
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FGF-2	Fibroblaszt növekedési faktor-2 (Fibroblast growth factor-2)
FOXA2	Forkhead box A2
GCK	Glükokináz gén
GDM	Gesztációs Diabetes Mellitus
GH	Növekedési hormon
GIP	Glükózdependens inzulinotrop peptid
GLP-1	Glucagon like peptide-1
GWAS	Genomszéles asszociációs vizsgálatok (Genome-wide association study)
HAPO	Hyperglycemia and Pregnancy Outcome
HGP	Hepaticus glükóztermelés (Hepatic glucose production)
HHS	Hyperglykaemiás hyperosmoláris állapot
HLA	Humán leukocita antigen

HOMA-B	Homeostasis Modell Assessment-Beta
HOMA-IR	Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance
HONK	Hyperozmoláris nem ketotikus kóma
hPGH	Human placentaris növekedési hormon
hPL	Humán placentáris laktogén
HSC	Haematopoietikus őssejt
HSPC	Haematopoietikus őssejt és progenitor sejt
HUN	Magyarországi terhes populáció
HWE	Hardy–Weinberg ekvilibrium
IADPSG	International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups
IAPP	Szigetsejt-amyloid polipeptid (Islet amyloid polypeptide)
IDF	Nemzetközi Diabetes Szövetség (International Diabetes Federation)
IFCC	Nemzetközi Klinikai Kémiai Szövetség (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine)
IFG	Emelkedett éhomi vércukor (Impaired Fasting Glycaemia)
IFN- $\gamma$	Interferon gamma
IGF1	Insulin-like growth factor 1
IGT	Csökkent glükóztolerancia (Impaired Glucose Tolerance)
IL-10	Interleukin 10
IL-6	Interleukin 6
IR	Insulin receptor
IRDS	Újszülöttkori respirációs distress szindróma (Infant respiratory distress syndrome)
IRS1	Inzulin receptor szubsztrát-1
IRS2	Inzulin receptor szubsztrát-2
KASP™	Kompetitív allél specifikus PCR genotipizáló rendszer
KCNJ11	Potassium Inwardly-Rectifying Channel J11
KZS	Köldökzsinór



LADA	Latens autoimmun diabetes felnőttkorban (Latent Autoimmun Diabetes of Adulthood)
LGA	Gesztációs korához képest nagysúlyú újszülött (Large for gestational age)
MAF	Minor allél frekvencia
MafA	V-maf Musculoaponeurotic Fibrosarcoma Oncogene Homologue A
MAPK	Mitogen-aktivált protein-kináz
MDT	Magyar Diabetes Társaság
MHC	Major Histocompatibility Complex
MIDD	Anyai ágon öröklődő diabetes és sükettség (Maternally Inherited Diabetes and Deafness)
MNT	Orvosi táplálkozásterápia (Medical nutrition therapy)
MODY	Felnőttkori cukorbetegség fiatal korban (Maturity-Onset Diabetes of the Young)
MTNR1B	MTNR1B gén
NAD	Nikotinamid-adenin-dinukleotidot
NAFLD	Nem alkoholos zsírmáj betegség (Non-alcoholic fatty liver disease)
NEUROD1	Neurogenic Differentiation 1
NDDG	National Diabetes Data Group
NHANES	Amerikai Nemzeti Egészségügyi és Táplálkozási Vizsgálat (National Health and Nutrition Examination Survey)
NICE	Egyesült Királyság Egészség és Klinikai Kiválóság Nemzeti Intézete (National Institute for Health and Clinical Excellence)
NIH	Amerikai Nemzeti Egészségvédelmi Intézet (National Institutes of Health)
NK	Natural killer sejtek
OGTT	Orális glükóztolerancia-teszt
OR	Esélyhányados (Odds ratio)

PaC	Pancreas carcinoma
PCOS	Policisztás ovárium szindróma
Pdx-1	Pancreatic and Duodenal Homeobox-1
PG	Plazma glükóz
PGDM	Pregesztációs diabetes
PNDM	Permanens neonatalis diabetes mellitus
PPARG	Peroxisoma proliferációt aktiváló receptor gamma gén (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma)
RADIEL	Gesztációs diabetes mellitus prevenciós randomizált kontroll vizsgálat (randomised controlled gestational diabetes prevention trial)
RR	Relatív kockázat (Relative risk)
sDPP4	szérum DPP4
SGA	Gesztációs korához képest kissúlyú újszülött (Small for gestational age)
SNP	Egyponos-nukleotid polimorfizmus (Single-nucleotide polymorphism)
T1DM	1-es típusú diabetes mellitus
T2DM	2-es típusú diabetes mellitus
T3cDM	Pancreatogen diabetes
TCF7L2	Transcription Factor 7-like 2
TNF $\alpha$	Tumor nekrozis faktor alfa
TORCH	Toxoplasma gondii, Rubeola vírus, Cytomegalovírus, Herpes Simplex vírus szűrés
UKPDS	United Kingdom Prospective Diabetes Study
VEGF	Vaszkuláris endoteliális növekedési faktor (Vascular endothelial growth factor)
VEGF-A	Vaszkuláris endoteliális növekedési faktor A (Vascular endothelial growth factor A)
WHO	Egészségügyi Világszervezet (World Health Organization)

## 1. Bevezetés, irodalmi háttér

### 1.1. A diabetes előfordulási gyakorisága és jelentősége

A cukorbetegség (diabetes mellitus) a XXI. század egyik legjelentősebb egészségügyi kihívása. Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) becslése szerint a magas vércukorszint a korai halandóság harmadik kockázati tényezője, a magas vérnyomás és a dohányzás után. [1] A cukorbetegség globális prevalenciája 1980 óta megkétszereződött, 4,7%-ról 8,8%-ra növekedett a felnőtt népesség körében (108 millió 1980-ban, 422 millió diabeteses 2014-ben), amely 2012-ben 1,5 millió halálesethez vezetett. Világviszonylatban az incidenciát szem előtt tartva, éves szinten 10 millió új esetnek felel meg. A világ összpopulációjának (7,3 milliárd fő) 8,8 %-a szenved a diabetes valamelyik formájától 2015-ös adatok szerint. Az optimálisnál magasabb vércukorértékek további 2,2 millió ember halálának kóroki tényezője, a szívérrendszeri megbetegedések, valamint további betegségek kockázatának növelésével. [1]

2015-ben a 20-79 éves korosztályban 415 millió beteget tartottak számon (11 személyből 1 cukorbeteg, a nemi megoszlás: 51,9% férfi és 48,1% nő), ugyanebben az évben 5 millióan haltak meg a diabetes okozta szövődmények következtében. 2040-re további növekedés várható, a becslések szerint a népesség 10,4%-át érintheti ez a kórkép, amely 642 millió embert jelent (várhatóan minden 10. személy diabeteses lesz). Európában jelenleg 59,8 millió cukorbeteg él, 2040-re várhatóan 71 millióra nő a diabeteses népesség. [2] A 2-es típusú diabetes a cukorbetegség leggyakoribb formája, amelynek előfordulási gyakorisága a kulturális és szociális változásokkal párhuzamosan növekszik. A gazdaságilag fejlett országokban a cukorbeteg 91%-a 2-es típusú cukorbeteg. [2-6] A Nemzetközi Diabetes Szövetség (International Diabetes Federation, IDF) becslése szerint jelenleg hozzávetőleg 193 millió diagnosztizálatlan cukorbeteg van, 15 felnőttből 1 csökkent glükóz toleranciát (IGT) mutat. A gesztációs diabetes mellitus (GDM) megjelenési gyakorisága még nagyobb, a legújabb diagnosztikai kritériumrendszer alkalmazása mellett [7] minden 7. várandós nő érintett lehet. 2015-ös adat szerint 20,9 millió élveszületés (16,2%) szövődött terhesség alatti hyperglykaemiával. A GDM későbbi életkorban kialakuló 2-es típusú cukorbetegség prediktora.

## **1.2. A diabetes hatása a gazdaságra**

A direkt költségek 75%-át elsősorban a diabetes hosszú távú szövődményeihez kapcsolódó ellátási költségek alkotják. [2] A diabetes kezelése egyre komplexebbé válik, ami egyfelől hatékonyabb és jobb kezeléseket eredményez, ugyanakkor a költségek növekedése is megfigyelhető. [8] A közvetett terhek becslése alapján Magyarországon is jelentős kiadást jelent, a cukorbetegség teljes becsült társadalmi terhe a hazai GDP 1%-át teszi ki. [9]

Egy középkorú, orális antidiabetikummal kezelt szövődménymentes cukorbeteg éves kezelési költsége 208000 forintba került 2007-ben. A szövődmények jelentkezésekor a kezelési költség háromszorosra növekedett. A cukorbetegség szövődményeinek kezelése sokkal nagyobb gazdasági terhet jelent, mint ezek prevenciója. [10] Az EPI projekt - az utóbbi másfél évtized (2001-2014) OEP adatbázisának diabetológiai szempontú retrospektív vizsgálata – eredményei alapján látható, hogy a 2-es típusú cukorbetegség egészségügyi költségterhének alakulására forintban megadott költségek terén az utóbbi 5-6 évben stagnálás jellemző, azonban euróra átszámítva ugyanebben a periódusban csökkenő tendencia figyelhető meg (21%-os csökkenés 2011-2014 között). [11]

## **1.3. A szénhidrátanyagcsere-zavarok kóroktani osztályozása**

A diabétesz számos típusa, besorolása ismert, klinikai tünetei a betegség típusától függően változnak. A jelenlegi WHO és ADA osztályozás alapján a betegség kóroktanilag négy főcsoportba sorolható: 1-es típusú diabetes mellitus, 2-es típusú diabetes mellitus, gesztációs diabetes mellitus és egyéb specifikus típusok.

A tézisben a T1DM (mind a pregesztációs, mind a terhesség alatt felismert T1DM formák) ismertetésére csak korlátozott mértékben van lehetőség, ugyanis a munkám alapját képező vizsgálatokban kizárási kritériumként szerepel. Az 1-es típusú, autoimmun eredetű cukorbetegség kevésbé gyakori, ennek ellenére évente 3%-os növekedésről számoltak be, ami globálisan kb. 86000 újonnan diagnosztizált beteg gyermeket jelent. [2] Az 1-es típusú cukorbetegség kialakulásában genetikai tényezők meghatározó szerepet játszanak, kb. 70%-ban magas rizikótényező HLA allélok valamelyikének hordozása igazolható, azonban ennek ellenére csak 3-7%-ban alakul ki

T1DM a rizikó allélt hordozók között. [12] Az 1-es típusú diabetes mellitus kialakulásának hátterében a genetikai hajlammal rendelkező egyéneknél T-sejt mediálta autoimmun folyamat áll. A destruktív immunfolyamat előrehaladtát a béta-sejtek kompenzáló proliferációja és a regulátoros T-sejtek működése nem képesek ellensúlyozni. A csökkenő inzulinmennyiség kezdetben a szénhidrátanyagcsere-zavar enyhébb formájához vezet (prediabetes), azonban a folyamat előrehaladásával klinikailag manifest diabetes mellitus alakul ki. A T1DM felnőtt korban kialakuló késői formája a latens autoimmun diabetes felnőttkorban (Latent Autoimmun Diabetes of Adulthood, LADA), amelyre a béta-sejt lassúbb destrukciója és a klinikai kép évekig elhúzódó kibontakozása jellemző.

### **1.3.1. A 2-es típusú diabetes mellitus (T2DM)**

A 2-es típusú diabetes a cukorbetegség leggyakrabban előforduló formája, amely gyakran, de nem minden esetben összefügg az elhízással. Európában a lakosság kb. 9%-a cukorbeteg, és az újonnan diagnosztizált esetek 90%-át meghaladó mértékben ez 2-es típusú diabetezt jelent. A kórképre az emberi szervezet glükózfelhasználási zavara jellemző. A 2-es típusú diabetezt általában inzulinrezisztencia jellemzi, de a szénhidrátanyagcsere-zavar addig nem manifesztálódik, ameddig a béta-sejt funkció ezzel képes lépést tartani. Patomechanizmusának alapja az esetek többségében a vázizomokban, a májban és a zsírszövetben fennálló inzulinrezisztencia, amelyhez később a hasnyálmirigy inzulinszekréciójának relatív zavara társul, amely azt jelenti, hogy a béta-sejtek már nem képesek alkalmazkodni a megnövekedett perifériás inzulin szükséglethez. [13] Napjainkban már elfogadott nézet, hogy a béta-sejtek diszfunkciója elengedhetetlen a szénhidrátanyagcsere-zavar kialakulásához, ideértve a prediabeteses állapotokat is. A kórkép kialakulása összetett kórfolyamatok eredménye, amely érinti a vázizomzatot, a máj és zsírszövetet, de involvált lehet az inkretin rendszer, szerepe lehet a hyperglucagonaemianak, a T2DM-hez asszociálódhat a plazmaglükóz-renális glükózexkréciós görbe eltolódása magasabb glükózértékek felé, továbbá központi idegrendszeri mechanizmusoknak is szerepe lehet. [14]

A májban az inzulinrezisztencia a bazális állapotban megfigyelhető fokozott glükózprodukciónak következtében alakul ki az éhomi hyperinzulinaemia ellenére [15], ugyanis károsodik az inzulin hatására bekövetkező hepaticus glükóztermelés (HGP)

szupressziója [16]. A hepaticus glükóz output nagyfokban, 80%-ban meghatározza az éhomi vércukorszintet. [17] A vázizmokban az inzulinrezisztencia károsodott glükózfelvételként figyelhető meg és szénhidrát-tartalmú étkezést követően hozzájárul postprandialis hyperglykaemia kialakulásához. [18] A nyugati világban a cukorbetegség terjedésének egyik fő tényezője az obezitás és fizikai inaktivitás következtében kialakuló fokozott inzulinrezisztencia. Habár a GWAS (genomszéles asszociációs vizsgálatok) azonosítottak néhány olyan génvariánst, amely az inzulinrezisztencia fokozásán keresztül hajlamosít a T2DM kialakulására, az azonosított génvariánsok többségének mégis a béta-sejt diszfunkció kialakulásában van szerepe. Ez a tudás az elmúlt másfél-két évtized extenzív genetikai vizsgálatainak eredményeként nyert tért az orvosi tananyagban. [19-21] Az obezitás és a csökkent fizikai aktivitás egyaránt inzulinrezisztens állapot, amelyhez a genetikai hajlam társulása esetén legtöbbször hasnyálmirigy béta-sejt diszfunkció is együttjár, és ez a fokozott inzulinszekrúciós igénnyel együtt vezet a szénhidrát-anyagcsere felborulásához. Ennek numerikusan is megjelenő bizonyítéka, hogy nagyobb esetszámú orális glukóztolerancia-teszttel (OGTT) egybekötött vizsgálatok során a disposition index (DI) bizonyult a később kialakuló 2-es típusú diabéttel legjobban összefüggő változónak. [22] A betegség patogenezisének kezdetén a perifériás inzulinrezisztenciát fokozott mértékű inzulinelválasztás ellensúlyozza. [23] A pancreas Langerhans-szigeteinek béta-sejtjei azonban idővel már nem képesek a szükségletnek megfelelő mennyiségű inzulint elválasztani és relatív szekrúciós zavar mutatkozik. Az inzulinelválasztás kezdeti zavarára az ún. első, gyors fázisú inzulinválasz kiesése a jellemző. A folyamat végére kialakul a 2-es típusú diabétes mellitus.

Az emelkedett éhomi vércukor (IFG) és IGT klinikai jelentőségét újabb vizsgálatok tisztázták. Az IFG lakosságon belüli előfordulása, fenotípusa, nemek közti gyakorisága különbözik az IGT-től. Mind az IFG, mind az IGT a kialakuló T2DM, valamint a szív- és érrendszeri megbetegedések kockázati tényezői, de az IFG és az IGT is egyaránt a diabétes mellitus fokozott kockázatára utal. [24]

A betegség felismerésekor a béta-sejt funkció hozzávetőleg számottevő csökkenése már megfigyelhető, és a terápiától függetlenül tovább károsodhat. A béta-sejt funkció fő defektusai T2DM-ben az inzulinválasz első és második fázisának jelentős csökkenése intravénás glükóz hatására illetve késleltetett vagy csökkent válasza étkezést követően.

A betegség előrehaladtával az inzulinszekréció is csökken és a béta-sejtek bizonyos hányadának pusztulása vagy dedifferenciációja is jellemző lehet. [25-27]

T2DM-ben a béta-sejt tömeg kb. 20-40%-nak csökkenése nem teljes mértékben magyarázza az inzulinválasztás 80% feletti csökkenését. A leggyakoribb hisztológiai eltérés a Langerhans-szigetekben az amylin, vagy szigetsejt-amyloid polipeptid (Islet amyloid polypeptide, IAPP) oldhatatlan fibrillumainak jelenléte a sejteken kívül. Az IAPP szerepet játszik az inzulinszekréció károsodásában és toxikus a béta-sejtekre, azonban jelenleg még nem teljesen tisztázott a T2DM patomechanizmusában betöltött szerepe, ugyanis normál glükóztoleranciájú idős személyekben kb. 20%-ban kimutatható. Egyes megfigyelések szerint a csillagsejtek aktiválódásának következtében létrejövő úgynevezett sziget-specifikus fibrosis jelenléte is fontos hisztopatológiai tényező lehet a kórkép kialakulásában. [28] Szerzők beszámolnak arról, hogy pancreaticus csillagsejteket mind a hyperinzulinaemia [28], de a krónikus hyperglykaemia közvetlenül is képes aktiválni. [29] Egészen a közelmúltig a T2DM a felnőtt, idősebb korosztályt érintette, napjainkban azonban a klinikai vizsgálatok arra utalnak, hogy egyre gyakrabban diagnosztizálható T2DM a gyermekek és a serdülők között is. Ez kapcsolatban állhat azzal a megfigyeléssel, hogy az utóbbi időben emelkedett a kórosan elhízott gyermekek száma. [24, 30]

### 1.3.2. Egyéb diabetes formák

Ide tartoznak:

- a béta-sejt működés genetikai zavarai:
  - a monogénes diabetesesek, amelyeknek ma mintegy 20 különböző génhez kapcsolt típusa ismert, a diabetes szindrómának mintegy 5%-át alkotják. A béta-sejt diszfunkcióhoz vezető MODY (maturity-onset diabetes of the young: felnőttkori cukorbetegség fiatalokban) kórképek a diabeteses esetek hozzávetőleg 1-2%-ért felelősek.
  - Neonatalis diabetesről akkor beszélünk, ha a diabetes az élet első hat hónapjában manifesztálódik, lehet permanens (PNDM) vagy tranziens jellegű. A mitochondriumok örökletes funkciózavarai a béta-sejteket is

károsíthatják, ennek következtében mitochondrialis diabetes mellitus alakul ki, amelynek prevalenciája 1% az összes diabeteses kórforma között. [31]

- Transzmaternalis transzmissziójú MIDD (Maternally Inherited Diabetes and Deafness) a mitokondriális DNS-ben bekövetkező mutáció miatt alakul ki.
- pancreatogen diabetes: a pancreas állományát kiterjedten roncsoló akut és krónikus pancreatitis és a pancreas térszűkítő folyamatai következtében kialakuló egyéb diabeteshez vezető kórformákat változó mértékű inzulinhiány jellemzi (T3cDM), [32]
- az inzulinhatás genetikai zavaraihoz,
- endocrinopathiákhoz csatlakozó,
- gyógyszerek és kémiai anyagok kiváltotta diabetes,
- az immunmechanizmusú cukorbetegség szokatlan formái és
- genetikai szindrómák, amelyek esetenként diabetésszel társulnak.

### **1.3.3. Anyagcsere változások diabetes mellitusban**

A diabetes mellitus olyan anyagcsere-betegség, amelynek középpontjában a szénhidrát-anyagcsere zavara áll, de a kórfolyamat közvetve a zsír- és a fehérje-anyagcserében is zavart okoz. A zsír-anyagcsere zavarait jelzi diabetesben, hogy a zsírsavszintézis kulcsenzime az acetyl-CoA-karboxiláz kevésbé aktivált, mint fiziológiai körülmények között, így a zsírsavak és a trigliceridek szintézise lecsökken. Az inzulinszenzitív aminosav transzport csökkenése következtében csökken a fehérjeszintézis a szívben és a májban, ezzel ellentétben a vese és a bélrendszer sejtjeiben a fehérjeszintézis fokozódik. Az inzulin hatásmechanizmusában és annak zavaraiiban az izom, a zsírszövet és a máj működése a legmeghatározóbb. Az izmokban az abszolút inzulinhiány vagy az inzulin elégtelen hatása csökkent glükózfelvételt okoz. A zsírszövetben szintén csökken a glükóz felhasználása és metabolizmusa. A máj glükóztermelése az inzulin abszolút vagy relatív hiánya esetén szabályozatlanná válik, és a perifériás szövetek glükóz felvételi zavarával együtt tovább növeli a vércukorszintet. [24]



#### 1.3.4. A diabetes mellitus szövődményei

A korai mérföldkő vizsgálatok, mind az 1-es típusú cukorbetegségben (Diabetes Control and Complications Trial, DCCT trial), mind a 2-es típusú cukorbetegségben (United Kingdom Prospective Diabetes Study, UKPDS study) egyértelműen bizonyították, hogy szorosabb glikémiás kontrollja, ami alacsonyabb HbA<sub>1c</sub> értékekkel jellemezhető csökkentik a diabeteses szövődmények kialakulásának arányát. A UKPDS vizsgálat utánkövetéses eredményei azt igazolták, hogy 10. követési év végén az intenzívebb kontrollt megvalósító karon alacsonyabb HbA<sub>1c</sub>-szintet (0,9%-os csökkenés) figyeltek meg és ez a szövődmények kialakulása szempontjából is kedvezőbbnek bizonyult: 25%-kal a microvascularis szövődmények összesen: 21%-kal a retinopathia, 33%-kal az albuminuria, továbbá 16%-kal a myocardialis infarctus előfordulás, 24%-kal a katarakta extrakció műtét és 22%-kal a perifériás érbetegség (1%-os HbA<sub>1c</sub> csökkenés, 6 évre vonatkoztatva) csökkenését lehetett megfigyelni. [33]

Az Amerikai Nemzeti Egészségügyi és Táplálkozási Vizsgálat (National Health and Nutrition Examination Survey, NHANES) és a Medicare adatbázisa alapján a diabetes mellitus major szövődményeinek relatív kockázatát (RR) és esélyhányadosát (OR) határozták meg: öszsmortalitás (RR=2,31), kardiovaszkuláris mortalitás (RR=2,98), alsó végtag amputációja (RR=1,27), krónikus veseelégtelenség (OR=2,5), nem javítható látásromlás (RR=1,85). [8]

A cukorbetegség szövődményeinek időbeli fennállását tekintve heveny és idült, a vascularis szövődmények szempontjából pedig kis ér (microvascularis) illetve nagy ér (macrovascularis) eredetű szövődményeket különíthetünk el. Akut szövődmény a diabeteses ketoacidosis (DKA), a hyperozmoláris nem ketotikus kóma (HONK), a hyperglykaemiás hyperosmoláris állapot (HHS), a laktátacidózis valamint a hypoglykaemia. Krónikus szövődmények közé a vasculáris és a neuropáthiás eredetű elváltozásokat soroljuk. A vasculáris eredetű elváltozások során a kis erek károsodásának kitüntetett helyei a retina (retinopathia), a vese glomerulusai (nephropathia), az idegszövet (neuropathia) és a kardiovaszkuláris rendszer (myocardialis infarctus, stroke), alsó végtagi fekély és amputáció, habár bizonyos szövődmények kialakulása összetettebb folyamat (pl. neuropathia), és nem kizárólagos mechanizmus az érrendszeri károsodás.

A diabeteses macroangiopathia a szervezet összes nagy és középnagy artériáit érintheti. A diabetesben kialakuló atheromás plakk jellemző megjelenési formáit az alsó végtagi artériák, a coronaria rendszer és a fej-nyaki erek megbetegedései képezik. [24]

A diabetes szövődményei közé sorolhatóak továbbá egyes tápcsatornai megbetegedések, így például a motilitászavar, amelynek legsúlyosabb formája a gastroparesis. A cukorbetegség egyes fertőzések kockázatát is növelheti (pl. húgyúti fertőzések) és a sebgyógyulás zavarát is eredményezheti.

A modern medicina felismerése, hogy bizonyos daganatok és a cukorbetegség között összefüggés áll fenn. Példaként említhető, hogy Ben Q. és mtsai 35 vizsgálat metaanalízisét követően igazolták, hogy a diabetes mellitus növelte a pancreas carcinoma (PaC) kialakulásának kockázatát (RR=1,94) földrajzi elhelyezkedéstől, nemtől, testtömegindextől (BMI), alkoholfogyasztási és dohányzási szokásoktól függetlenül. [34] Ugyanakkor az előbbi példában érdemes kiemelni, hogy a PaC és a DM közötti kapcsolat kétirányú, a cukorbetegség egyaránt kockázati tényezője és következménye is lehet a hasnyálmirigyráknak. A 2-es típusú diabetes mellitus szövődményeinek következtében átlagban 6 évvel, kb. 25%-kal [35], egy kínai vizsgálat eredményei alapján, akár 10,5 évvel is csökkenhet a várható élettartam. [36]

#### **1.4. Gesztációs diabetes mellitus (GDM)**

A gesztációs diabetes mellitus (GDM) a terhesség során először felismert hyperglykaemia. [1, 2] Fogalma nem zárja ki annak a lehetőségét, hogy a glükóztolerancia már a terhesség előtt is fennállt. [37, 38] [39]

A hyperglykaemia más formáihoz hasonlóan, a GDM-et a szervezet inzulinszükségletéhez képest relatív elégtelen inzulinellátása jellemzi. A GDM-et jellemző hyperglykaemia mértéke kevésbé súlyos, mint a terhességen kívüli diabetesformáké. A GDM gyakran kialakulófélben lévő diabetes korai manifesztációja, ezáltal a kialakuló diabetes tanulmányozására és megelőzési stratégiák kidolgozására ad lehetőséget. A GDM definíciója függetlennek tekinthető attól, hogy a kezelés során kapott-e a beteg inzulint.

A terhesség alatt jelentkező diabetes leggyakoribb formája a GDM (kb. 90%), ami elkülönítendő a terhességet megelőzően diagnosztizált diabetestől, amit pregesztációs diabetesnek (PGDM) neveznek.

Ennek megfelelően, a terhességet megelőzően diagnosztizált cukorbetegség (pl. T1DM, az elmúlt időszakban egyre gyakrabban megjelenő T2DM vagy egyéb diabetes formák) nem sorolhatóak a GDM kórképbe. A „diabetes in pregnancy” vagy más néven „overt diabetes” elkülönítendő a legutóbbi WHO ajánlás szerint, amennyiben az OGTT során olyan vércukorértékeket mérünk, amelyek a cukorbetegség diagnosztikai kritériumait terhesség nélkül is kimerítik. Ebben az esetben már nem GDM-ről hanem terhességben megjelenő definitív diabetesről van szó. A „diabetes in pregnancy-t” azért különítjük el a GDM-től, mert az anyagcsere betegség egy súlyosabb formáját jelenti, amely nagy valószínűséggel a terhességet követően is fennmarad. A terhesség befejezte után a terhességet követő 6-10. hét között kell elvégezni az anyagcsereállapot reklasszifikálását.

A várandósság nagyon korai szakaszában az éhomi és a postprandialis vércukorszintek fiziológiásan alacsonyabbak, mint a nem terhes nőkben. A graviditás diabetogén hatása több tényezőnek tulajdonítható, hozzájárulnak a terhesség alatt fiziológiásan bekövetkező hormonális változások is: a humán placentáris laktogén (hPL), a progeszteron, az ösztrogén, a prolaktin, a humán placentaris eredetű növekedési hormon

(hPGH), valamint a kortizol felelős az anyagcsere-egyensúly diabetogén irányba való változásáért. [40] Újabban felmerült az adipokin hormonrendszer, az inkretinek és a korai inzulinválaszban bekövetkező változások szerepének lehetősége is. [41] A terhesség alatt fiziológiásan az inzulinszükséglet 3-4-szeresre is emelkedhet, ezért a megjelenő betegség egy több évtizeddel később kialakuló anyagcserezavar előrejelzője is lehet. A terhesség vagy elhízás okozta megváltozott metabolikus igényekhez, a hasnyálmirigy a béta-sejt populáció növelésével reagál. A csökkenő inzulinérzékenységhez társuló emelkedett inzulinigény majdnem a terhesség végéig fokozódik (34-36. hétig). [42, 43] Ezért szénhidrátanyagcsere-zavar és GDM kialakulása azokban a terhesekben várható, akiknek a hasnyálmirigye nem képes lépést tartani a terhesség alatt fiziológiásan emelkedő inzulinszükséglettel. A várandósok 90-95%-ában megmarad a normál glükóztolerancia, kb. 5-10%-ban alakul ki GDM. [44, 45] A terhességi cukorbetegség kialakulásának legfontosabb kockázati tényezői az elhízás, a helytelen étrend, a mozgásszegény életmód és az anyai életkor. A kockázatot csökkentheti a megfelelő táplálkozás, valamint a rendszeres, teherbíró képességhez mért mozgás. A magasabb anyai életkor növeli a GDM kialakulásának kockázatát, az etnikai hovatartozással kapcsolatban megfigyelt prevalencia-különbségek pedig genetikai tényezők szerepét is felvetik. A megfelelő életmód és étrend kialakítása a kezelés első lépése. Az esetek 20-25%-ában inzulinkezelésre is szükség van [46], ugyanakkor az inzulikezelésre szoruló várható aránya függ az alkalmazott diagnosztikai kritériumrendszerrel is. [47] A GDM kezelésével csökkenthetőek az anyai és magzati szövődmények. A terhesség előtt tudatos tervezéssel és életmódváltással a GDM kialakulásának kockázata csökkenthető. A betegtájékoztatás, iránymutatás és megerősítés nélkülözhetetlen az orvosok és dietetikusok részéről a betegek és a még nem beteg terhesek számára.

#### 1.4.1. GDM előfordulási gyakorisága

Világszerte az incidencia egyre nő az elhízás, mozgásszegény életmód, egészségtelen táplálkozási szokások és az anyai életkor kitolódása következtében. A legújabb vizsgálatok alapján elmondható, hogy a gesztációs diabetes mellitus előfordulási gyakorisága ~16-127%-kal nőtt az utóbbi 20 évben a különböző etnikumoktól, illetve a követési időtartamtól függően. [48] [39]

A fiziológiásan magasabb inzulinrezisztenciával jellemezhető állapotban (terhesség) akkor alakulhat ki GDM, amikor a béta-sejt adaptív válasz már nem elegendő az inzulinszükséglet lefedésére az optimális szénhidrát-anyagcsere biztosításához.

Világviszonylatban, az IDF adatai szerint, minden 7-ik terhesség szövődik GDM-mel. Az incidencia és prevalencia adatok az egyes országokon belül is eltérőek lehetnek az alkalmazott szűrési forma és a különböző kritériumrendszerek miatt.

A GDM globálisan fokozott figyelmet kapott a prevalencia folyamatos - Kína, India kifejezett - növekedésének köszönhetően. [49] Kína északi részében 1999-2008 között 2,3%-ról 6,8%-ra nőtt a GDM prevalenciája. [50]

A legfrissebb magyar vizsgálat becslése szerint hazánkban a GDM prevalenciája az alkalmazott diagnosztikus kritériumtól függően 8,1-14,8% közötti. [51] A GDM magyarországi előfordulásának alakulását régóta számos munkacsoport követi. Pátkay és mtsainak, a 80-as években megkezdett vizsgálata a 10 éves dunaujvárosi szűrési adatokat ismertetve a GDM prevalenciáját még csak 3% körülnek írta le, 1,7-4,1% közötti éves ingadozással [52]. Winkler és mtsai által 1995-ben végzett szűrés eredménye 7,5%-os GDM gyakoriságot mutatott [53]. Kerényi és mtsai a budapesti Szent Imre Kórházban egyéves követés során 5,3%-os, 3 éves követés során 6,4%-os gyakorisággal diagnosztizáltak GDM-et várandósok szűrése során. [54] A legfrissebb adatok alapján, amelyben összehasonlították a régi WHO kritériumrendszerrel és az IADSPG, majd később a WHO által is elfogadott kritériumrendszerrel diagnosztizált GDM előfordulási gyakoriságokat, a prevalenciát 8,1-14,8% közöttinek találták az alkalmazott kritériumtól függően, az újabb kritériumrendszer (IADPSG, WHO 2013) alkalmazása mellett majdnem kétszeres prevalenciaérték volt megfigyelhető. [51] A

GDM prevalencia és incidencia ilyen mértékű növekedésének fontos egészségügyi hatásai vannak a várandósokra és a GDM terhességből született gyermekekre is, akik kezelés nélkül a méhen belüli magzati hyperglykaemiával szemben védtelenek.

#### **1.4.2. GDM kockázati tényezői**

A 2-es típusú diabetes kialakulásának kockázata a korábban GDM-ben szenvedő nők esetében megnövekedett, [55] továbbá a macrovascularis szövődmények rizikója emelkedett a 2-es típusú diabetes kialakulásától függetlenül is [56]. Vizsgálatok azt igazolják, hogy a méhen belül GDM-nek kitett gyermekek esetében növekszik a késői gyermekkorban, adolescens korban kialakuló obezitás, hypertonia és 2-es típusú diabetes kockázata. [57]

Az elhízás, 25 évnél idősebb anyai életkor, családi anamnézisben szereplő 2-es típusú diabetes, valamint az előző terhesség(ek) során előforduló terhességi cukorbetegség ismert kockázati tényezők a GDM kialakulásában. [58]

##### ***1.4.2.1. Módosítható kockázati tényezők***

- **Fizikai aktivitás:** Nem terhes populáción végzett epidemiológiai és klinikai vizsgálatokból gyűjtött evidenciák igazolják, hogy a glükóz homeosztázis a fizikai aktivitás inzulinszenzitivitásra kifejtett hatásán keresztül befolyásolható. A mozgás jó hatással van az inzulinrezisztenciával járó állapotokra, az inzulinszenzitivitás javul. [59, 60] Az inzulinszenzitivitás fokozásával és a glükóztolerancia javításával számos mechanizmuson keresztül, a fizikai aktivitásnak jótékony hatása van az inzulinrezisztencia több aspektusára. [60] Számos vizsgálat a terhesség előtti és alatti fizikai aktivitás és GDM kockázatesökkenése között pozitív összefüggést igazolt. [61, 62] Ez a hatás fokozódik a fizikai aktivitás intenzitásának és idejének növelésével. A Nurses' Health Study II prospektív vizsgálatban 21765, legalább egy terhességet kihordott nőt vontak be. Eredményeik ~20%-os kockázat csökkenést igazoltak GDM kialakulásával szemben azoknál a

nőknél, akik a terhességet megelőzően naponta kb. 30 perc élénk sétának megfelelő erőteljes aktivitást végeztek. [63] Oken és mtsai megfigyelték, hogy a terhesség előtti fizikai aktivitás csökkentette a GDM és bármely antepartum glükóz intolerancia kockázatát (44 illetve 24%-os csökkenés). [64] Dempsey és mtsai eset-kontroll vizsgálatukban azt találták, hogy a terhesség első 20 hetében bármilyen szabadidős fizikai aktivitásban való részvétel 48%-kal csökkentette a GDM kockázatát. [65]

- Étrend: A Nurses' Health Study II vizsgálat adatai felvetették, hogy a terhesség előtti étrend összefüggésben van a terhesség alatti glükóz intolerancia kialakulásának kockázatával. Ebben a nagyméretű prospektív vizsgálatban, szignifikáns összefüggést figyeltek meg a nyugati, valamint az alacsony szénhidrát tartalmú étrend és GDM kialakulásának kockázata között. [66] Az alacsony szénhidrát tartalmú étrendet gyümölcsök, zöld leveles zöldségek, baromfi és hal, míg a nyugati típusú étrendet vörös hús, feldolgozott hús, finomított gabonatermékek, édességek fogyasztása jellemezte. A terhesség előtt vörös húst fogyasztó nőket összehasonlítva, megfigyelték, hogy a heti 6 adag 1,74-szeresére emelte a GDM kockázatát a heti 2 adaggal szemben (RR: 1,74, 95%-os konfidencia intervallum- CI: 1,35-2,26). A terhesség előtti teljes kiőrlésű rostok és gabonafélék, gyümölcsrostok fogyasztása szignifikáns fordított arányú kapcsolatot mutatott a GDM kockázattal. [67]
- Dohányzás: A cigarettázás összefüggést mutat a fokozott inzulinrezisztencia és a 2-es típusú diabetes kockázatának növekedésével, amint azt férfiakban és nem terhes nőkben végzett tanulmányok bizonyítják. [68] Sajnos még mindig elég gyakori a várandós nők körében is a dohányzás, annak ellenére, hogy 8%-os csökkenést figyeltek meg az utóbbi évtizedben. [69] A Nurses' Health Study II a megrögzött dohányosok körében 1,43-szoros kockázat emelkedést igazolt. [70]
- Testsúly: A legfontosabb módosítható kockázati tényező az elhízás, tekintettel az obezitás robbanásszerűen fokozódó prevalenciájára az utóbbi évtizedben a fogamzóképes korú nőkben. A GDM kockázata szignifikánsan

és fokozatosan növekedik a túlsúlyos, elhízott és súlyosan elhízott nők körében. Számos - különböző populációkban végzett - tanulmány emelkedett GDM kockázatot igazolt túlsúlyos vagy elhízott nőkben, sovány vagy normál testsúlyú nőkhöz viszonyítva. 1980-2006 között publikált, 20 releváns vizsgálatot összefoglaló metaanalízis eredményei azt mutatják, hogy 2-, 3- és 6-szoros növekedés látható a túlsúlyos, elhízott és súlyosan elhízott nők GDM kialakulásának kockázatában a normál testsúlyú terhes nőkhöz képest (illesztett RR (95% CI) 1,86 (1,22-2,78), 3,34 (2,43-4,55), 5,77 (3,60-9,39). [71] A terhességet megelőző 5 év során 2,3-10 kg közötti súlygyarapodás jelentős kockázatemelkedést mutatott GDM kialakulására. [72] A legújabb vizsgálatok azt sugallták, hogy  $\geq 29$  kg/m<sup>2</sup> BMI-vel rendelkező nők körében csak életmódváltatással nem előzhető meg a GDM. [73] Ugyanakkor – részben a munkacsoportunk későbbi megfigyeléseire és később részletezendő friss irodalmi adatokra hivatkozva – kiemeljük, hogy szerzőknek ez a megállapítása egy genetikai szempontból nem vizsgált populáció összességére nézve igazolt, genotípusok ismerete nélkül, azaz bizonyos génvariánsok kockázati alléljeinek hordozása ezt a megállapítást a továbbiakban számottevően árnyalhatja.

Összességében, ezek az adatok azt támasztják alá, hogy a túlsúly és elhízás megelőzése segíthet a GDM előfordulásának csökkentésében. A terhes nők vagy terhességet tervező nők motiváltak lehetnek a terhesség kimenetelét javítani célzó tanácsok megfogadására, emiatt a terhesség vagy annak tervezési ideje az egyik legmegfelelőbb időszak az egészséges életmód támogatására.

#### ***1.4.2.2. a) Nem módosítható kockázati tényezők***

- **Életkor:** A késői gyermekvállalás is a kockázati tényezők közé sorolható. Magyarországon 1980 és 2000 között jelentősen megváltoztak a gyermekvállalási viszonyok. A 20 éven aluli és a 20-24 éves korcsoportú anyák száma 1/3-ra illetve 3/4-re csökkent. Jelentősen megemelkedett a 25-29 és a 30-34 éves korban először gyermeket vállaló anyák aránya

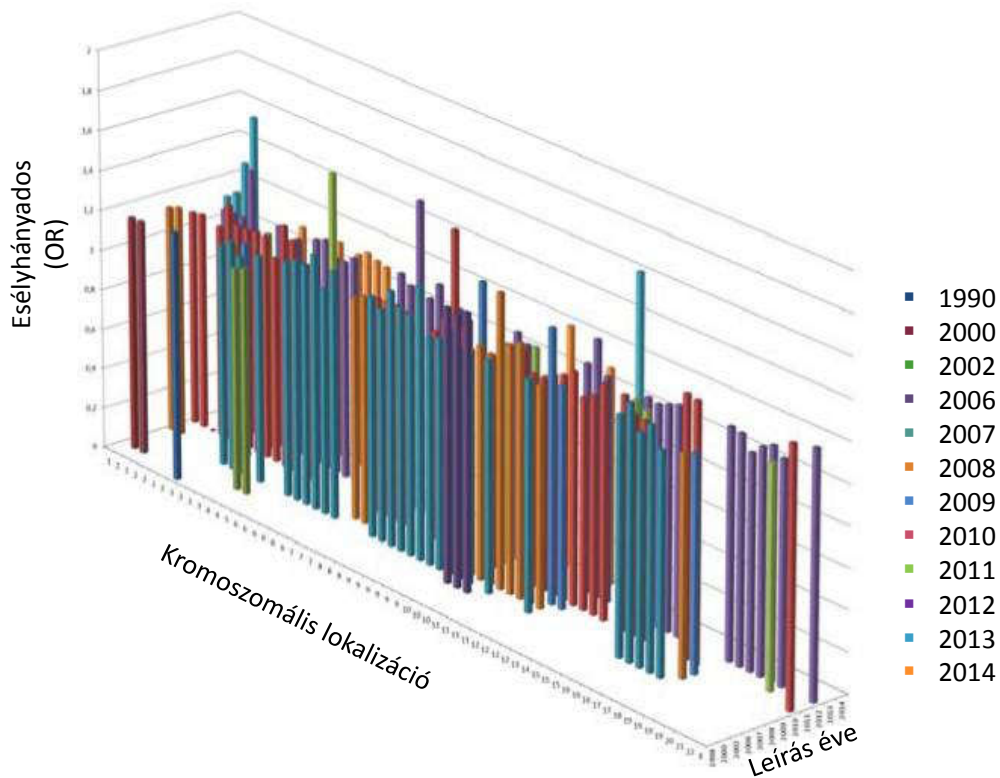


(15%-ról 37%-ra illetve 5%-ról 12%-ra). [74] Az anyai életkor 40 éves korig növeli a GDM előfordulását. [75]

- Etnikum: A dél-kelet ázsiai, Csendes-óceáni, hispán, afrikai, őshonos amerikai és ausztrál bennszülött származású nőknek magasabb a kockázata a GDM kialakulására a kaukázusi nőkkal szemben. [76]

#### **1.4.2.2. b) A genetikai tényezők szerepe általában a GDM kialakulásában**

A legújabb vizsgálatok megerősítik azt a feltételezést, hogy a GDM etiológiájában genetikai tényezők is szerepet játszanak. [77, 78] A kórelőzményben szereplő GDM a 2-es típusú diabetes kialakulásának kockázatát hosszútávon növeli. [79] Családi anamnézisben előforduló diabetes 8,5-szörös kockázatemelkedést jelent GDM vonatkozásában. [80] A GDM és a 2-es típusú diabetes mellitus patogenezisében hasonlóságok mutatkoznak, úgymint a csökkent inzulinszekréció és a növekedett inzulinrezisztencia. [81] Ennek alapján néhány szerző, arra a következtetésre jutott, hogy a GDM és 2-es típusú diabetes genetikai háttere hasonló. [82] Az inzulinszekréció variabilitását monozigóta ikervizsgálatokban 75-84%-ban örökletesnek találták, ami a genetikai tényezők kiemelt jelentőségére utalhat a GDM kialakulásában döntő fontosságú béta-sejt plaszticitás elmaradásában. [40, 83] Az ismeretek rohamos növekedését tükrözi, hogy 1998-ban egy, 2002-ben kettő, 2015-ben pedig már 153 génvariánst írtak le a szakirodalomban, amelyek 2-es típusú diabetesre hajlamosítanak vagy ezzel kapcsolatos releváns metabolikus jellegekhez („trait”) asszociáltak. [84] Egyes szerzők a terhességi és a 2-es típusú diabetest ugyanazon betegség entitás időben eltérő megjelenésű aspektusaként írják le. [85] A számos GWAS vizsgálat ellenére a GDM protektív és kockázati génvariánsok lokuszai még nem teljes mértékben ismertek.



1. ábra: T2DM-el vagy releváns metabolikus traitekkel asszociált egyponos génvariánsok (SNP-k) [84]

A genetikai fogékonyság feltehetően a hajlamosító és a védő génvariánsok bonyolult együttállásának következményeként alakul ki, ami további összetett kölcsönhatásban van környezeti és egyéb, a betegség kialakulását meghatározó további tényezőkkel (pl. BMI, életkor). A 2-es típusú cukorbetegség esetében a feltárt genetikai hajlam poligénes jellegű, ami azt jelenti, hogy a nagyszámban leírt hajlamosító génvariánsok közül egy génvariáns hordozása által jelentett betegségkockázat általában nem túl magas, az OR jellemzően 1,1-1,5 között változik. (1.ábra) A kandidáns génasszociációs vizsgálatok és a genom széles asszociációs vizsgálatok (Genome Wide Association Study, GWAS) eredményeinek metaanalízise azonosított bizonyos géneket, amelyek reprodukálhatóan kapcsolatban vannak a GDM kialakulásával: Transcription factor 7-like 2 (*TCF7L2*), Glükokináz (*GCK*), Potassium voltage-gated channel subfamily J member 11 (*KCNJ11*), Potassium voltage-gated channel

subfamily Q member 1 (*KCNQ1*), CDK5 regulatory subunit associated protein 1 like 1 (*CDKALI*), Insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 2 (*IGF2BP2*), Melatonin receptor 1B (*MTNR1B*), Insulin receptor substrate 1 (*IRS1*), Tumor Necrosis Factor Alfa (*TNF $\alpha$* ). Ezek a gének jórésben olyan fehérjéket kódolnak, amelyek a béta-sejtek működésében, fejlődésében és a terhesség alatti normális glükózzmetabolizmus fenntartásához nélkülözhetetlen béta-sejt plaszticitásban/adaptációban alapvető szereppel bírnak. [40, 77, 78] Ugyanakkor néhány génvariáns, pl. az rs7578326 variáns a *LOC646736/IRS1* régióban az inzulinszenzitivitást befolyásolja. A *TCF7L2* transzkripció faktor, a Wnt jelátviteli út tagja, amely a HAPO vizsgálat szerint GDM-ben az 1 és 2 órás vércukorszinttel, míg egy metaanalízis szerint az átlagpopulációban az éhomi vércukorszinttel mutatott szoros összefüggést. Újabb elemzések szerint a korai GWAS vizsgálatokban a BMI-re való korrekcióval bizonyos génvariánsok hatását túlbecsülték, másokét pedig alulbecsülhették, így a *TCF7L2* hatásnagysága vélhetően túlbecsült volt, míg egyes *MTNR1B* génközeli variánsok hatása alulbecsült lehetett. [86] A *GCK* gén által kódolt glükokináz fehérje funkciója a glükóz foszforilációja béta-sejtekben és hepatocytákban.

A HAPO vizsgálat kiterjesztése keretében az egyik vizsgálatban kombinált európai és ázsiai populációból származó egyéneket vontak a vizsgálatba és két gyakori génvariáns (rs1799884 *GCK*, rs7903146 *TCF7L2*) genotípus asszociációit vizsgálták az OGTT időpontjában meghatározott gravidalis éhomi és 1, illetve 2 órás plazma glükózszintek között. Az éhomi vércukorszintek összefüggtek mind az ázsiai, mind az európai populációban *GCK* rs1799884 genotípussal, ugyanakkor az 1 és 2 órás összefüggés mintázatában már eltérés mutatkozott a két populáció között, és a *TCF7L2* rs rs7903146 genotípus pedig csak az európai származásúakban függött össze szignifikánsan a vércukorszintekkel. A jelenség magyarázata nem teljesen tisztázott, ugyanakkor észrevehető, hogy az európai származású és az ázsiai populációban a terhesség előtti BMI értékekben már klinikailag is értékelhető különbségek mutatkoztak (28,4-29,7 kg/m<sup>2</sup> vs. 25,6 kg/m<sup>2</sup>).

A *KCNJ11* és *KCNQ1* gének az inzulinszekréció szabályozásában résztvevő káliumcsatornákat kódolnak, specifikus génpolimorfizmusaik hyperglykaemiára hajlamosító hatásuk révén hozzájárulhatnak a GDM kialakulásához. A *CDKAL1* gén a ciklin-függő kináz 5 (CDK5) regulátoros alegysége; az enzim a béta-sejtek túlélési képességét növeli a terhességben fokozódó inzulinszekréció stressztényezőit ellensúlyozva. Az *IGF2BP2* gén által kódolt fehérje az IGF2 mRNS 5'UTR régiójához való kötése révén annak translációját szabályozza, ami a metabolikus rendszerek (glükóz, inzulin) homeosztázisának szabályozásában vesz részt, az *IGF2BP2* rs4402960 génvariánsa 2-es típusú cukorbetegséghez és GDM-hez asszociált.

A GDM kialakulásában játszott szerepük alapján az alábbi csoportokat különböztetjük meg:

- inzulinérzékenységet befolyásoló génvariánsok: *PPARG* variánsai,
- korai inzulinválaszt befolyásoló génvariánsok: *MTNR1B*, *CDKAL1* és *IGF2BP2* variánsai,
- béta-sejtek inkretinre adott válaszát befolyásoló génvariáns: *TCF7L2* variánsai.

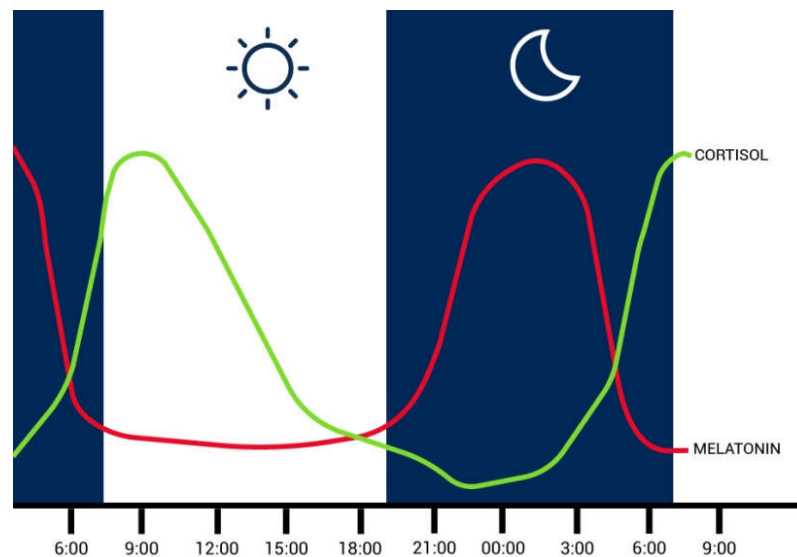
A legújabb, 2016-ban megjelent, metaanalízis és alcsoport analízis vizsgálat 28 cikk eredményeit összefoglalva, 8204 GDM és 15221 kontroll terhes személy orvosi adatait elemezve 6 lókuszt hoz szignifikáns összefüggésbe a GDM kialakulásával és hatásmechanizmus szerint csoportosítja:

- inzulinválasz meghatározásában van szerepe: *MTNR1B*, *TCF7L2*,
- inzulinrezisztencia kialakulásában van szerepe: *IRSI*, peroxisoma proliferációt aktiváló receptor gamma gén (*PPARG*),
- az inzulin, az inzulinszerű növekedési faktorok és a glükóz homeosztázisának szabályozásában van szerepe: *IGF2BP2*,
- gyulladós mechanizmusok a T2DM és/vagy GDM patogenezisében: *TNF $\alpha$* . [87-90]

**1.4.2.2. c) Az *MTNR1B* gén polimorfizmusainak szerepe a különböző diabeteses kórformák, a béta-sejt diszfunkció és a korai inzulinválasz károsodás kialakulásában**

Az *MTNR1B* gén által kódolt fehérje a béta-sejtekben expresszálódik. A melatonin gátolja az inzulinszekrúciót a béta-sejteken az *MTNR1B* fehérje aktiválása révén [91].

Az *MTNR1B* gén a melatonin két nagy affinitású receptora (*MTNR1A* és *MTNR1B*) közül az egyiket kódolja, a corpus pineale által termelt hormon glükózmétabolizmust szabályozó hatása az inzulinszekrúció circadian ritmusára gyakorolt hatásán keresztül jön létre. A fiziológias szerepe ennek a szabályozásnak részben az lehet, hogy azokban az éjszakai órákban, amikor a szteroidhormonszintek (kortizol) fiziológiasan alacsonyak, a magasabb melatoninszintek miatt az inzulinszekrúció csökken, így elkerülhető az éjszakai hypoglykaemia (2. ábra).



2. ábra: Melatonin és kortizol circadian ritmusa

Az *MTNR1B* egyes génvariánsairól ismert, hogy összefüggésben állnak az éhomi vércukorszintekkel és a G-proteinhez kapcsolt receptor jelátvitel változása következtében a béta-sejtek csökkent glükózérzékenységével és károsodott inzulinszekrúciójával. [92, 93] Az rs10830963 génvariáns a korai

inzulinszekréció károsodásával és csökkent HOMA-B (Homeostasis Modell Assessment-Beta) értékkel is összefüggésben áll GDM-ben. [94, 95]

Egy nagy kiterjedésű, 2 millió egyponos génvariánssal végzett koreai GWAS vizsgálat az *MTNR1B* rs10830963 variánst kockázati polimorfizmusként azonosította GDM kialakulása szempontjából. [96]

A GDM-hez asszociált génvariánsok azonosítása céljából a közelmúltban 28 vizsgálat metaanalízisét végezték el, ennek során az *MTNR1B* rs10830963 kockázati *G* alléljának GDM kialakulásával való összefüggését mutatták ki. Ugyanakkor ez a megfigyelés csak azokban a vizsgálatokban volt szignifikáns, amelyekben olyan betegek vettek részt, akiknek átlagos terhesség előtti BMI értéke  $25 \text{ kg/m}^2$  feletti volt, de nem azokban a vizsgálatokban, amelyekben ennél kisebb volt a betegek átlagos terhesség előtti BMI értéke.

A hasnyálmirigy béta-sejtjei MT2 receptorokat expresszálnak, amelyeket az *MTNR1B* gén kódolja. A melatonin, amely az epifízis által, éjszaka termelt hormon, amely az MT2 receptorhoz kötődve az ATP adenilát cikláz hatására ciklikus adozin-monofoszfáttá (cAMP) való átalakulását csökkenti. Ennek következtében csökken a cAMP hatására aktiválódó kináz (proteinkináz-A) szintje is, amely a glükóz metabolizmusra adott inzulinszekréciós válasz gátlását vonja maga után. Az *MTNR1B* kockázati *G* allélját hordozó személyekben a béta-sejtjeiken az MT2 receptorok upregulációja figyelhető meg, amelynek következtében az inzulinszekréció kifejezettebb gátlása valósul meg. [97]

A funkcióját tekintve fontos megállapítani, hogy az *MTNR1B* rs10830963 variánsának kockázati *G* allélhordozás következtében egy kötőhely jön létre, ami felismeri a *NEUROD1* és más transzkripciós faktorok konszenzus szekvenciáit. Ez a kötődés valószínűleg összefüggésben állhat a kockázati *G* allél által az *MTNR1B* mRNS expressziójának növelésével [98] és ezt követően a melatonin jelátvitel növekedéséhez vezet az inhibitoros G-fehérjén keresztül, ami a cAMP rendszeren keresztül csökkenti az inzulinszekréciót. [99]

Ezek a változások magyarázzák azt, hogy a *G* allél hordozása következtében miként alakulnak ki a magasabb plazmaglükózszintek és a 2-es típusú cukorbetegsége, valamint a GDM-re való hajlam.

Ezzel kapcsolatban fontos megjegyezni, hogy a terhesség alatt a plazma melatonin szintek magasabbak és a melatonin átjut a placentán, sőt a fetális vér-agy gáton is.

### **1.4.3. A GDM diagnózisának és szűrésének lehetőségei és a jelenleg érvényben lévő ajánlások**

A cukorbetegség évezredek óta ismert betegség, azonban a terhesség alatt jelentkező formáját a XIX-ik században azonosították. A cukorbetegségről az egyiptomi Ebers-papiruszok említést tesznek i.e. 16. században (i. e. 1550).

A terhesség alatt jelentkező cukorbetegség első említése Bennewitz De diabete mellito, graviditatis symptomate 1824-ben, Berlinben publikált orvosi tézisében olvasható, amelyben klinikai esetet mutat be: egy nő három egymást követő terhessége során jelentkezett nagyfokú szomjúság és ismétlődő glükózuria, az egyik gyermeke 5,5 kg testsúllyal született. A vizeletéből nagy mennyiségű cukrot mutattak ki. Lever 1847-ben, Londonban egy hasonló esetet közölt a Guy's Kórház Klinikai Közlönyében [100].

1882-ben Duncan Londonban beszámol 16 nőbeteg 22 terhességéről. Magas arányban fordult elő anyai és perinatális halálozás: az anyáknál több mint 60%-ban és 47%-ban az újszülöttek körében. A terhességek megfigyelésével a következő megállapításokat és következtetéseket vont le:

- cukorbetegség kialakulhat terhesség alatt,
- cukorbetegség előfordulhat csak a terhesség ideje alatt,
- a cukorbetegség a terhesség befejeztével megszűnhet, és a szülést követően valamikor visszatérhet,
- cukorbetegség kialakulhat a szülést követően,
- terhesség előfordulhat cukorbetegség mellett is,

- a terhesség és szülés folyamatát látszólag nem befolyásolja a cukorbetegség,
- a terhességet gyakran a magzat halála megszakítja [101].

Williams, baltimore-i szülész-nőgyógyász professzor 1909-ben 66 irodalmi esetet foglalt össze. Ötvenöt beteg a teherbeesést megelőzően cukorbeteg volt, 9 betegnél a teherbeesést követően alakult ki cukorbetegség és két esetben a betegség kezdete bizonytalan volt. Az anyai halálozási arányok magasak voltak: 27% körüli a szülés idején, további 23% két évvel a szülést követően, a perinatális mortalitási arányok 27-53% között változtak. Kéziratának középpontjában a terhességi glükózuria értelmezése és diagnosztikus szerepe állt, mivel abban az időben a cukorbetegség diagnózisa a vizeletben megjelenő cukor alapján történt. Kimutatta, hogy vizeletben 1-3 g/L között előforduló cukor terhesekben fiziológiás állapot, de magasabb koncentráció cukorbetegségre utal, különösen kora terhességben és tünetek jelentkezésével egyidejűleg. A tanulmánya a terhességi cukorbetegség első prospektív szűrőprogramja lehetett volna [101].

Az inzulin felfedezését és 1923-ban alkalmazásának bevezetését követően a terhességek aránya hétszeresére nőtt a rövid ideje diagnosztizált cukorbeteg nők körében.

Az 1940-50-es években megfigyelték, hogy a 2-es típusú cukorbeteg nők korábbi terhességeik során nagyobb volt a perinatális halálozási arány és a nagy magzati súly. Ezen felismerést követően a kutatók a vércukorszintet a terhességi kimenetellel és a hosszútávú anyai cukorbetegség kialakulásának kockázatával kapcsolatban tanulmányozták nem cukorbeteg várandós nők körében. Jørgen Pedersen epidemiológus 1952-ben elsőként posztulálta az anyai hyperglykaemia hatására kialakuló magzati hyperglykaemia, és ennek következtében jelentkező fokozott magzati inzulinválaszt magyarázó elméletét [102]. Az 1960-as években O'Sullivan állapította meg, hogy a terhesség során diagnosztizált szénhidrátanyagcsere-zavar növeli a magzati macrosomia valamint az újszülött későbbi életszakaszában kialakuló diabetes kockázatát, és elsőként határozta meg a GDM diagnosztikus kritériumait. Az Amerikai Egyesült Államokban 1964-ben O'Sullivan javaslatára vezették be a 100 g-os orális glükóztolerancia tesztet várandósság alatt [103]. Randomizált, kontrollált vizsgálatot végzett 599 potenciálisan cukorbeteg és normál, kontroll csoportba sorolt nő körében: diétás kezelés, kis adag



NPH-inzulin (Neutralis Protamin Hagedorn inzulin) valamint a rutin prenatalis gondozás hatásait hasonlította össze. A vizsgálat a 4090 g feletti testsúlyú újszülöttek számának szignifikáns csökkenését igazolta a diétával és/vagy inzulinnal kezelt GDM csoportban a nem kezelt GDM csoporthoz viszonyítva (4,3% - rutin prenatalis gondozás vs. 13,1% - diéta és/vagy NPH-inzulin,  $p < 0,05$ ), de nem találtak jelentős különbséget a perinatalis halálozást illetően a kezelt és kezeletlen GDM csoportokban [104].

Magyarországon a cukorbetegség és a terhesség kapcsolatáról az 1960-70-es években születtek az első tanulmányok. [105] Ezidőben a fővárosi Orvostovábbképző Intézetben munkacsoport született a cukorbeteg terhes nők ellátására, majd 1975-ben Magyar Imre kezdeményezésére, Tamás Gyula vezetésével interdiszciplináris munkacsoport jött létre. Ezt 1992-ben a Diabetesszel Társuló Terhességgel Foglalkozó Munkacsoport megalakulása követte, majd országszerte szerveződtek a diabeteses terhes nők ellátásával kiemelten foglalkozó munkacsoportok. Közös munkájuk eredményeképpen az 1990-es években az inzulinnal kezelt cukorbeteg nők gyermekeinek perinatalis halálozása 1% körülire csökkent, a fejlődési rendellenességekkel született gyermekek aránya pedig hasonlóan kedvező volt. [106]

O'Sullivan munkáját követő évtizedekben bizonytalanság volt a GDM szűrővizsgálatokat és a diagnosztikai vércukorszint értékeket illetően. Kontrollált vizsgálatokat végeztek, hogy bizonyítsák vagy megcáfolják a kezelés szükségességét GDM-ben. Az első többcentrumos, randomizált, kontrollált vizsgálatot 1993-2003 között Ausztráliában és az Egyesült Királyságban végezték. A vizsgálat elsődleges végpontja a súlyos perinatalis szövődmények előfordulási gyakorisága volt, ennek során szignifikánsan alacsonyabbnak találták a vállalakadás, csonttörések, idegbénulás arányát az intervenciós csoportban, mint a rutin gondozásban részesülő terhesekben (1 vs. 4%,  $p = 0,01$ ). [107] Ezt követő időszakban ugyancsak nagyobb többcentrumos, randomizált, kontrollált vizsgálatot 2002-2007 között, 16 szülészeti osztályon végeztek az Egyesült Amerikai Államokban. 473 kontroll és 485 GDM terhest választottak ki, akik az alábbi kritériumoknak feleltek meg:

- 24-31-ik terhességi hét,
- 50 g-os glükóz terhelési teszt 1 órás értéke 135-<200 mg/dL (7,5-<11,1mmol/L) közötti,
- 5,3 mmol/L alatti éhomi vércukorszint,
- ultrahang vizsgálattal igazolt terhességi hét, kórelőzményben nem szerepel GDM, preegzisztáló DM, szteroidalkalmazás, magasvérnyomás, vetélés.

A vizsgálat eredménye a következő előre specifikált másodlagos végpontokban szignifikáns csökkenést mutatott a kezelt betegekben: átlagos születési súly (3302 vs. 3408 g), neonatalis zsírtömeg (427 vs. 464 g), a terhességi hétre vonatkoztatott magas születési súly (7,1% vs. 14,5%), 4000 g feletti születési súly (5,9% vs. 14,3%), vállalakadás (1,5% vs. 4,0%) és császármetszés (26,9% vs. 33,8%). [108] Mindkét vizsgálat azt igazolta, hogy az orvosi táplálkozásterápia (Medical nutrition therapy, MNT) és a vércukor önkontroll, szükség esetén az inzulinkezelés a fenti klinikai végpontokat javította.

A terhességi cukorbetegség diagnosztikájára nincs konszenzus a különböző diabetesszel foglalkozó szervezetek ajánlásaiban.

(1. Táblázat)

#### ***1.4.3.1. Egészségügyi Világszervezet (WHO) ajánlása***

A WHO kritériumok a legegységesebben elfogadottak a GDM diagnózisában. Az első ajánlásokat 1965-ben publikálták, egy évvel a genfi WHO Expert Committee on Diabetes Mellitus konferenciát követően, amely az első próbálkozások egyike nemzetközi konszenzus kialakítására a diabetes mellitus klasszifikációjában. A 75 gramm glükózzal végzett OGTT alkalmazását javasolták nem terhes állapotban a cukorbetegség diagnosztikus eszközeként, majd 1990-ben a Harmadik Nemzetközi GDM Workshop-Konferencián javasolták először a GDM diagnosztikájában történő alkalmazását. [109] A WHO 1999-es ajánlásában közölte először a gesztációs diabetes mellitus diagnózisának kritériumait [110]. Az 1999-es ajánlás átvett bizonyos elemeket az 1997-es ADA kritériumokból, az éhomi vércukorszint határértékét 7,0 mmol/L-ben állapították meg, amit a vénás plazmából mérnek. [111] Ez az érték később még mindig

túl magasnak bizonyult, ezért újra módosítás történt az ajánlásban az újabb kutatási eredmények fényében. 2006-ban a WHO módosítása megengedte, hogy az 1999-ben elfogadott ajánlásban a GDM diagnózisra vonatkozó OGTT éhomi értékét a különböző centrumokban módosítsák,  $\geq 6,1$  mmol/L-re, az ezt a módosítást alkalmazó centrumok ezáltal a GDM-et a nem terhes populációban IFG-re és/vagy IGT-re jellemző plazmaglükózértékeknek megfelelően definiálták, majd 2013-ban az IADPSG ajánlása ezt az értéket a HAPO-vizsgálat eredményei alapján 5,1 mmol/L-re csökkentette.

#### ***1.4.3.2. Hyperglycemia and Pregnancy Outcome (HAPO) vizsgálat, International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG) Konszenzus Panel ajánlása***

A világszerte ellentmondásos, nem egységes GDM szűrési kritériumok és az 1999-es, illetve a 2006-os WHO diagnosztikai kritériumok megengedő határértékei miatt egy nagyobb (23316 várandós, 18 év feletti nő) multinacionális epidemiológiai vizsgálatot végeztek 2000 júliusa és 2006 áprilisa között. A HAPO vizsgálat célja a 24-28-ik terhességi héten végzett 75 g-os OGTT vércukorértékek és a perinatális kimenetel közötti összefüggések felderítése volt. A HAPO megfigyelései igazolták, hogy a perinatális szövődmények (anyai, magzati és újszülött) kockázata folyamatos növekedést mutatott a 24-28-ik terhességi hét között mért anyai éhomi vagy terhelés utáni glykaemiás értékekkel a korábban normál értéktartományba sorolt szinteken. [112]. Az összefüggések az anyai kortól, obezitástól, etnikai hovatartozástól és családi anamnézistől függetlenek voltak. Az alacsony rizikócsoporthoz tartozó nők terhességi kimenetele és teszt vércukorszintjei között is szignifikáns összefüggés van. A magzati macrosomia (az újszülött 90-es percentilis feletti születési súlya), magzati hyperinzulinaemia (90-es percentilis feletti köldökzsín C-peptid érték), újszülött klinikai hypoglykaemia és az újszülöttkori bőrredők vastagságának összessége (sum of skinfolds, 90-es percentilis feletti) összefüggést mutatott az anyai enyhén emelkedett vércukorértékekkel [113]. A vizsgálat ezen eredményeit tekinthetjük a Pedersen posztulátum utólagos megerősítésének.

A terheléses vércukorértékeket 7 vércukortartományba sorolták (pl. az éhomi plazmaglükóz értékeket 4,2-5,6 mmol/L között osztották 7 csoportba), és ez alapján

kerestek összefüggéseket az említett klinikai végpontokkal. Tekintettel arra, hogy az így kapott összefüggés-görbékben egyértelmű inflexiós pontot nem tudtak megállapítani, ezért 40 ország szakembereiből álló nemzetközi panelt kértek fel a határértékek megállapítására, amely úgy döntött, hogy azokat a határértékeket fogadja el, ahol az esélyhányados 1,75-öt eléri.

A HAPO kutatói standardizált diagnosztikai módszerek bevezetését javasolták a GDM meghatározására, megfelelőbbnek tartották a diagnosztikai kritériumokat a kóros terhességi kimenetelre és nem a terhességet követő anyai diabeteskockázatra hitelesíteni. A konszenzus létrejöttének segítése céljából 2008 júniusában a kaliforniai Pasadénában az IADPSG globális konferenciát hívott össze. A konferencián bemutatott HAPO és más, szintén releváns vizsgálatok eredményeit figyelembe véve a Konszenzus Panel (IADPSG és egészségügyi szervezetek 50 tagból álló képviselői) javaslatai az alábbiak voltak:

- 24-28-ik terhességi hét között minden várandósnál egylépcsős tesztet kell végezni
- 75 g-os OGTT egy kóros eredménye alapján GDM diagnózist felállítani
- jelzett hyperglykaemia azonosítására a terhesség korai szakaszában kritériumokat és módszereket kell kifejleszteni, a fel nem ismert diabetes miatt növekedett magzati rendellenességek és anyai szövődmények kockázatának csökkentése céljából [114].

Az IADPSG irányelvei szerint a gesztációs diabetes diagnózisának felállításához szükséges éhomi vércukor érték 5,1 mmol/L; az 1 órás 10,0 mmol/L; a 2 órás 8,5 mmol/L. Amennyiben egy vagy több érték nagyobb vagy egyenlő a határértékkel, a GDM diagnózisa felállítható. Ezeket a határértékeket elfogadja és használja az ADA 2011 óta és a WHO 2013-as ajánlása is. Habár a határértékek elérése vagy meghaladása a terhesség ideje alatt bármikor kimerítik a GDM diagnózist az IADPSG ajánlása szerint, tekintettel arra, hogy a felhasznált adatok, amelyekre az ajánlás épül, nem a terhesség első feléből származnak, ezért az ajánlás a terhesség első felére vonatkoztatott része nem tekinthető bizonyítékokon alapulónak. [115] Ausztriában, közös kutatásunk egyik helyszínén, is az IADPSG kritériumrendszerét alkalmazták a GDM diagnózisának felállításához már 2011-ben.

A WHO 2013-as ajánlásában a terhesség alatt először felismert hyperglykaemia két csoportba sorolását javasolja:

- Diabetes mellitus terhességben
- Gesztációs diabetes mellitus [7].

A legújabb WHO ajánlás szerint GDM terhességnek minősül minden olyan terhesség, amely esetében a 75 grammos OGTT során az éhomi vércukorszint  $\geq 5,1$  , 1 órás érték  $\geq 10,0$  és/vagy a 2 órás érték  $\geq 8,5$  mmol/L, de nem éri el a nem terhes állapotokban a cukorbetegség diagnosztikájában használt vénás plazma glükóz határértékeket (éhomei:  $\geq 7,0$  mmol/L, 2h:  $\geq 11,1$  mmol/L), ugyanis amennyiben ezeket a határértékeket a terhesség alatt a beteg vércukorszintje eléri, azt már diabetes a terhességben kategóriának kell tekinteni. Fokozott kockázattal rendelkező kismamák esetében érdemes az első trimeszterben random vércukorszintet vizsgálni. Ha a korai terhelés eredménye a magas kockázatú populációban negatív, akkor meg kell ismételni az egyebekben rutinszerűen is a 24-28. hét között végzett cukorterhelést. Magyarországon korábban a WHO ajánlások közül egy korábbi (1999-es) módosított változatát alkalmazták.

#### ***1.4.3.3. Amerikai Diabetes Társaság (ADA) ajánlása***

Az ADA 1998 óta szelektív szűrést javasol. 2009 januárjában ajánlotta a kockázati tényezők elemzését és az OGTT alkalmazását minden olyan esetben, amikor nincs ismert diabetes (preegzisztáló vagy pregesztációs diabetes). Az ADA 2014-óta ajánlásaiban nagy hangsúlyt fektet az esetlegesen már a terhességet megelőzően kialakult, de még fel nem ismert 2-es típusú diabetes szűrésére az első prenatális szülészeti vizsgálat során.

A magas rizikócsoportha tartozó nők esetében minél előbbi, a terhesség igazolását követően azonnali szűrést javasol diabetesre, ami azt jelenti, hogy amennyiben pl. az éhomi vércukorszint eléri a 7,0 mmol/L-t az első prenatális vizit során, akkor azt vagy pregesztációs diabetesnek vagy diabetes terhességben kategóriának kell minősíteni, és ezekben a betegekben nem szabad 75 gramm OGTT vizsgálatot végezni. Ebből a szempontból a magas rizikócsoportha kritériumai:

- 35 év feletti anyai életkor
- súlyos (III. fokú) elhízás:  $BMI \geq 40 \text{ kg/m}^2$
- glükózuria
- policisztás ovárium szindróma (PCOS)
- családi anamnézisben 2-es típusú cukorbetegség
- korábbi terhességben: GDM, halott magzat, fejlődési rendellenességgel született magzat, macrosomia, nagyfokú hízás, polyhydramnion, magas vérnyomás.

Alacsony rizikócsoportha sorolható az összes alábbi jellemzőnek megfelelő terhes nő:

- 25 év alatti életkor
- terhesség előtt normál BMI
- alacsony diabetes előfordulású etnikai csoportba tartozás
- elsőfokú rokonai között nincs cukorbeteg
- saját kórelőzményben kóros glükóztolerancia nem szerepel
- nincs terhelő szülészeti anamnézis.

A GDM szűrésére az „egy lépéses” és a „két lépéses” stratégia alkalmazását javasolja, amelyből az „egy lépcsős” vizsgálat a 75g-os OGTT elvégzését jelenti a 24-28. terhességi héten, ennek értékelésére pedig az IADPSG határértékeket javasolja, azzal a szándékkal, hogy a gesztációs végpontok optimálisak legyenek. A „két lépéses” szűrési stratégiát is elfogadhatónak tartja, amely egy 50 g-os első és egy második 100g-mal végzett OGTT elvégzéséből áll, ennek további részletezésétől jelenleg eltekintünk. [116]

#### ***1.4.3.4. Egyesült Királyság Egészség és Klinikai Kiválóság Nemzeti Intézetének (National Institute for Health and Clinical Excellence, NICE) ajánlása***

2015. augusztusában a brit Nemzeti Intézet az Egészségért és a Klinikum Kiválóságáért frissítette a terhességi cukorbetegség diagnózisának kritériumrendszerét. Az ajánlás nem tesz javaslatot kötelező, általános érvényű OGTT alapú szűrővizsgálatra, csak nagyobb kockázatú csoportokban javasolja a 24-28. terhességi hét között a 75 g-os OGTT elvégzését, a kockázati tényezők alatt pedig a következőket érti:

- BMI 30 kg/m<sup>2</sup> felett
- korábbi terhesség során 4,5 kg testsúly feletti macrosom újszülött
- kórelőzményben terhességi cukorbetegség
- családi anamnézisben diabetes (elsőfokú rokonok között)
- magas diabetes előfordulású kisebbségi etnikumból származó család.

Amennyiben a 75g OGTT-t végül mégis elvégzik, a következő határértékekkel javasolja a GDM diagnózisát felállítani: éhomi  $\geq 5,6$  mmol/L, 2 órás plazma glükóz  $\geq 7,8$  mmol/L.

#### ***1.4.3.5. Magyar Diabetes Társaság (MDT) Diabetesszel Társuló Terhességgel Foglalkozó Munkacsoport ajánlása***

Hazánkban a 2004-ben meghozott szülészeti és belgyógyászati konszenzus alapján a WHO által javasolt egylépcsős szűrő- és diagnosztikai-teszt bevezetésével kötelezővé vált a GDM teljes körű szűrése. Valamennyi várandósnál a 24-28-ik terhességi hét között a szülészeti gondozás keretében standard 75 g-os OGTT vizsgálatot kell végezni. A szűrést minden várandós nőnél kötelező elvégezni, amennyiben preegzisztáló diabetes nem áll fenn. A Magyar Diabetes Társaság Diabetesszel Társuló Terhességgel Foglalkozó Munkacsoportja 2015. októberében a 75g-os OGTT értékelésekor a NICE által alkalmazott plazma glükóz határértékek alkalmazása mellett döntött.

1. táblázat: A GDM jelenleg érvényben lévő diagnosztikai kritériumai

OGTT diagnosztikus plazmaglükóz értékei	WHO *	ADA/ IADPSG *	ADA/ Carpenter- Coustan**	ADA/NDDG **	NICE*	MDT*
	75g OGTT	75 g OGTT	100 g OGTT	100 g OGTT	75 g OGTT	75 g OGTT
éhomei (mmol/L)	5,1-6,9	5,1-6,9	≥5,3	≥5,8	≥5,6	5,6-6,9
1 órás (mmol/L)	≥10,0***	≥10,0	≥10,0	≥10,6		
2 órás (mmol/L)	8,5-11,0	8,5-11,0	≥8,6	≥9,2	≥7,8	7,8- 11,0
3 órás (mmol/L)			≥7,8	≥8,0		

\* egy kóros plazmaglükózérték alapján GDM diagnosztizálható

\*\* legalább két kóros plazmaglükózérték alapján GDM diagnosztizálható

\*\*\* a standard 75g OGTT egy órás plazmaglükóz határértéke „overt diabetes (diabetes in pregnancy)” tekintetében nem tisztázott



#### 1.4.4. A GDM szövődményei

##### 1.4.4.1. *Perinatalis és anyai szövődmények*

A magzat és az anya számára egyaránt egészséget veszélyeztető a nem diagnosztizált vagy kezeletlen GDM. Nem csak az aktuális terhességre lehet káros hatással, hanem érintheti a későbbi terhességeket, az anya és az utód későbbi egészségi állapotát is. Nem kezelt esetekben egy sor neonatalis szövődmény fokozott kockázatával lehet számolni: macrosomia, vállalakadás, hypoglykaemia, szülési trauma, polycythaemia, ehhez kapcsolódóan szervi infarktusok, hyperbilirubinaemia, respirációs distressz szindróma, sectio caesarea.

A hosszútávú anyai konzekvenciák között említhető, hogy a terhességük során normális szénhidrát-anyagcseréjű nőkhöz képest korábban GDM terhességet viselt nők kockázata emelkedett a 2-es típusú diabetes 10-25 éven belüli kialakulására. Kórelőzményben szereplő GDM 60%-os kockázatot jelent évtizedekkel később a T2DM kialakulására. [79] Egy későbbi terhesség vállalása idején ugyancsak fokozott kockázattal rendelkeznek az ismételt szénhidrátanyagcsere-zavar kialakulására függetlenül attól, hogy szülést követően helyreállt-e az anyagcsere. Az esetek nagy hányadában a metabolikus szindróma korai manifesztációjának tekinthető a GDM megjelenése, ezért keringési kockázatot is jelent ennek az állapotnak a kialakulása.

A HAPO vizsgálat szignifikáns korrelációt talált a terhesség alatti hyperglykaemia és bizonyos perinatalis illetve anyai szövődmények között, amelyek a következők.

##### 1.4.4.1.1. *Macrosomia (90 percentilis feletti születési testtömeg)*

Figyelembe vették az újszülött nemét és etnikumát, amelyhez az eredményeiket hozzáigazították, továbbá a terhességi hetet, a vizsgálati centrumot és a szülések számát. A macrosomiának (>4000g születési testtömeg) fontos kockázati tényezője a GDM. (OR: 5,0) Ehhez kapcsolódva a GDM a császármetszések számát és a szülési traumák, illetve vállalakadások számát is növeli. (OR: 1,2) Ha jól kezelik a GDM-et, akkor a macrosomia előfordulása hasonló, mint az egészséges anyák újszülöttjeinél. [117]

#### **1.4.4.1.2. Császármetszés**

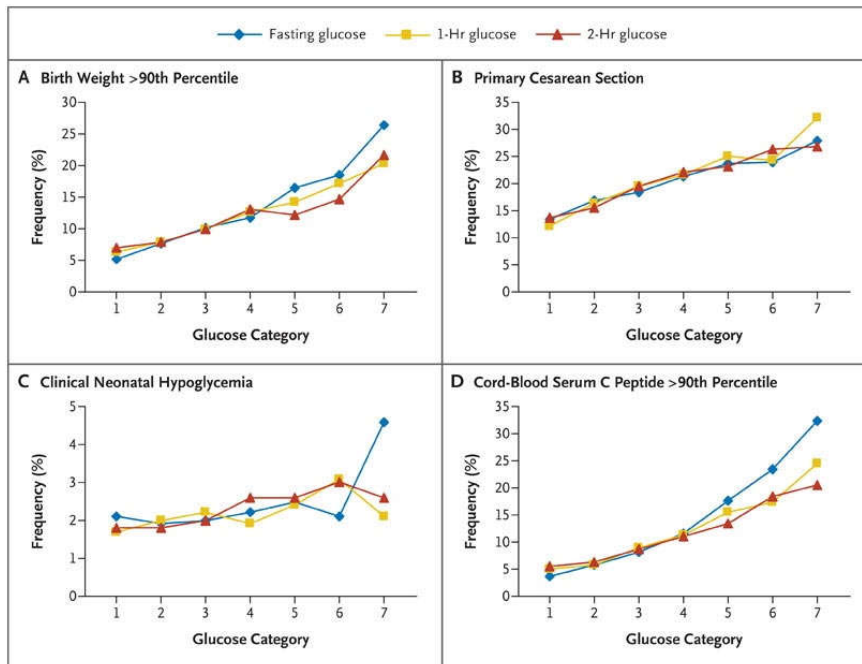
Szövődménynek számították, ha az anyának ez volt az első császármetszése. A császármetszések sokszor előre programozottak, ezért nem vonható le belőle egyenesen az a következtetés, hogy ha GDM alakul ki, akkor magasabb a császármetszés kockázata. Viszont GDM esetén nő a macrosomia kockázata, így közvetetten a császármetszés kockázata is. [117]

#### **1.4.4.1.3. Magzati hyperinsulinaemia és neonatalis hypoglykaemia**

A HAPO vizsgálatban résztvevők köldökzsinórból származó C-peptid értékeit vették figyelembe. Ha a C-peptid értéke meghaladta a 90 percentilis értéket, akkor hyperinsulinaemiát állapítottak meg. A köldökzsinórvér emelkedett C-peptid szintje gyakrabban fordul elő GDM terhesség esetén. A köldökzsinórvér (magzati) hyperinsulinaemia kockázatát a GDM hétszeresére növeli.

Abban az esetben, ha az újszülöttnél hypoglykaemiara utaló tüneteket figyeltek meg és glükóz infúzió hatására javult vagy az első 24 órában 1,7 mmol/L-nél vagy az első 24 órán túl 2,5 mmol/L-nél alacsonyabb vércukorszintet mértek neonatalis hypoglykaemianak minősítették. (OR: 1,98) [118]

A növekvő anyai vércukorszintekkel együtt nőtt a fent említett 4 elsődleges kimenetel előfordulási gyakorisága. A 24-28. terhességi hét között mért legalacsonyabb és legmagasabb éhomi vércukorszint kategóriáit összehasonlítva 5,3 % vs. 26,3 % volt a 90 percentilist meghaladó testsúlyú újszülöttek aránya, 13,3 % vs. 27,9 % volt a primer császármetszéseké, 2,1 % vs. 4,6 % a neonatalis hypoglykaemiáé és 3,7 % vs. 32,4 % volt az emelkedett C-peptid szintjének aránya (3. ábra). [119]



3. ábra: Az elsődleges kimenetek gyakorisága a vércukorértékek 7 kategóriájában [119]

#### 1.4.4.1.4. Koraszülés

A 37. terhességi hét előtti szülést minősítették koraszülésnek. Az OGTT során mért magasabb vércukorszintek összefüggésben álltak a koraszülés gyakoriságának növekedésével.

#### 1.4.4.1.5. Polycytaemia

A neonatalis polycythemia gyakoribb GDM-mel szövődött terhességekből született gyermekekben az átlagpopulációhoz képest, ennek ellenére vizsgálatunkat [120] megelőzően nem álltak rendelkezésre adatok a köldökzsinórvér haematopoietikus őssejt és progenitor sejt (HSPC) populációiról. Habár a jelenlegi tézis részét nem képei, társkutatóként részt vehettem abban a vizsgálatban, amelynek során a köldökzsinórvér HSPC arányának meghatározása történt áramlási citometria segítségével. A GDM-s

terhességből származó mintákban szignifikánsan nagyobb arányban voltak jelen a haemopoetikus ős- és a progenitor sejtek, mint a kontroll csoportból származó mintákban, ami magyarázatul szolgálhat az irodalomban fellelhető erythropoietinben talált különbségek mellett arra, hogy miért alakul ki neonatalis polycythaemia GDM terhességben. [120] Diétával kezelt GDM terhességből született egyének több mint 10%-ában 60% feletti hematokrit értéket írtak le [121], a neonatalis polycythemia inzulinnal kezelt GDM és T1DM-el szövődött terhességekben 30-40%-ban fordul elő. [122] Nagyobb arányban előforduló glikozilált haemoglobin, amelynek erősebb oxigénkötő affinitása van, mint a nem glikozilált haemoglobinnak, károsítja a placentához történő oxigénszállítást. [123] Ezt tovább ronthatja a csökkent uteroplacentaris vérkeringés, különösen az anyai vércukorszintek folyamatos, szigorú monitorozásának hiányában. Továbbá a magzati oxigénigény növekedhet a hyperinsulinaemia és hyperglykaemia indukálta magzati aerob metabolizmus stimulációja miatt. Ismert, hogy a köldökzinór human plazma erithropoietin (Epo) szintje a foetalis hyperinsulinaemia következtében emelkedett. A magzati oxigénigény és anyai oxigénellátás egyensúlyának felborulása magzati hypoxiát eredményezhet, és GDM-ben az emelkedett magzati plazma erythropoietin szintek ezt tükrözhetik. [124] Az őssejtek és progenitor sejtek mobilizációja humán rekombináns granulocytakolónia stimuláló faktorra adott válasza károsodott DM-ben, amelynek hátterében valószínűleg a CD26/DPP4 regulációjának zavara áll. A DPP4-CXCL12 tengelyt a HSCk mobilizációjának fontos regulátoraként azonosították felnőtt, human csontvelő ischaemias eseményekre adott válaszában. [125]

#### **1.4.4.1.6. Hyperbilirubinaemia**

Polycythaemia esetén a vörösvértestek fokozott mennyisége miatt a bilirubin szint is magasabb. Szülést követő fototerápia, emelkedett (>20 mg/dl) bilirubin érték vagy hyperbilirubinaemia miatti kórházi felvétel esetén minősítették hyperbilirubinémiásnak az újszülöttet.

#### **1.4.4.1.7. 90 percentilis feletti bőrredővastagság**

A lágyéki bőrredő vastagság mérése alapján számították ki. A mérés különleges kaliperrel történt.

#### **1.4.4.1.8. 90 percentilis feletti testzsírszázalék**

Az újszülött zsírszövetének tömegét a testsúly, testhossz és a lágyéki bőrredő vastagság alapján számították ki. A testzsírszázalékot pedig a zsírtömegből számították a  $(100 \times \text{zsírszövet-tömeg}) / \text{születési testsúly}$  képlet segítségével.

#### **1.4.4.1.9. Újszülöttkori intenzívterápiás ellátás**

Ha az újszülött intenzívosztályra került 24 órát meghaladó ideig, másik kórházba szállították vagy meghalt, akkor ebbe a kategóriába került.

#### **1.4.4.1.10. Preeclampsia**

Preeclampsianak minősítették a magas vérnyomást, ha a 20. terhességi hetet meghaladó időszakban 140 Hgmm-rel egyenlő és/vagy afeletti szisztolés vérnyomás vagy 90 Hgmm-rel egyenlő vagy afeletti diasztolés vérnyomás értéket mértek 6 órán belül legalább kétszer, proteinúriával kísérvé. [126]

A terhességben előforduló hypertonia súlyos szövődményeket okozhat mind az anyánál, mind a magzatnál. A gravidáknál eclampsiás rohamok léphetnek fel, agyvérzés, máj- és vesekárosodás alakulhat ki. Véralvadási zavarokat, idő előtti lepényleválást, koraszülést idézhet elő. A magzatok esetében növekedési retardációt és neonatalis respiratorikus distressz szindrómát okozhat. Ezek a szövődmények a második vagy harmadik trimeszter kezdetétől a szülést követő 6 hétig jelenhetnek meg.

#### **1.4.4.1.11. 10 percentilis alatti születési súly**

Ugyanazon tulajdonságokat vették figyelembe, mint a 90 percentilist meghaladó testsúly megállapítása esetén.

A fenti perinatális szövődmények tekinthető állapotok gyakrabban fordulnak elő GDM során, mint normális anyagcseréjű terhesség esetén. Mindezek alapján a kezeletlen GDM kockázati tényezőnek tekinthető a terhesség patológiás kimenetelére nézve. Hosszú távú hatásokkal is számolni kell azon egyének esetében, akik GDM terhességből születtek. Körükben gyakrabban fordul elő az elhízás, a magas vérnyomás és az IGT fiatal korban. Azon nők esetében, akik terhességük alatt több súly szedtek fel, az utódaik gyermekkorban súlyosabbak lesznek. Az utódoknak felnőttkorban magasabb a kockázata a 2-es típusú diabetes kialakulására. [127]

Az anyai hyperglykaemia a terhesség során és az elhízás egymástól függetlenül is növelik a perinatális szövődmények kockázatát. Együttesen pedig még nagyobb kockázat növelő hatással bírnak, mint külön-külön. [48]

#### **1.4.4.2. Egyéb szövődmények**

A GDM-ben számos hormon, növekedési faktor, citokin és metabolit koncentrációbeli változását írták le. A rendelkezésre álló adatok a magzati véráramban és a placenta morfológiájában és funkciójában egyaránt eltéréseket igazolnak, amelyek a megváltozott anyai és magzati millióre adott adaptív válaszok lehetnek.

A placenta széles körű funkciókkal rendelkező magzati szerv az anya és a magzat közötti határfelületen. Anyai tápanyagokat szállít a magzati növekedés fenntartása céljából, peptid és szteroid hormonokat termel, növekedési faktorokat szintetizál, hogy elősegítse az anyai adaptációt a terhességhez, meggátolja a magzat, mint allograft elleni kilökődési reakciót, lehetővé teszi a gázcsere, immunológiai barrier és a magzati metabolizmusból származó anyagcsere-végtermékek eloszlásában is szerepe van. A placenta fejlődése és működése nagymértékben szabályozott folyamat, amely elengedhetetlen a normális magzati növekedés és fejlődés, a megfelelő terhességi kimenetel biztosításához. A változások érintik az anyai neuroendokrin rendszert. Hormonok termelése útján a magzat szintén részt vesz saját növekedésének és

fejlődésének szabályozásában, képes a metabolikus folyamatokat, az utero-placentaris keringést, a sejt differenciálódást és a szülés megindulásának időpontját befolyásolni. A terhesség alatt termelődő növekedési faktorok közül a hPL (humán placentáris laktogén) a hasnyálmirigy szigeteinek tömegnövekedéséért és funkciójuk javulásáért felelős. [128] [129] Kísérleti modellekben a hPL a béta-sejtek proliferációját, a pancreas szigetek hyperplasiáját és hyperinsulinaemiát, valamint következményes hypoglykaemiát indukált. [130]

A glükóz nélkülözhetetlen tényező mindenféle magzati működéshez, a magzat és a lepényszövet legfőbb energiaforrása. A magzati szervezet csak minimális glükóz előállítására képes, ezért az anya szervezetből származó – facilitált diffúzió segítségével megvalósuló – glükóztranszport nélkülözhetetlen energiaforrás.

A magzati hyperglykaemia hátterében álló megnövekedett transzplacentaris glükózáramlás nem a glükóz transzporterek expressziójában fellépő változások következménye, mivel perfúziós kísérletek változatlan vagy akár csökkent transzplacentaris glükóztranszfert igazoltak diétával vagy inzulinnal kezelt GDM-ben. [131, 132] A GDM-hez asszociált inzulinszint-emelkedés a magzati és – ha inzulinnal kezelt - az anyai vérkeringésben is hozzájárulhat a GDM-ben in vivo megfigyelt placentaris elváltozásokhoz. Az inzulin indukálta aminosavak transzportjának fokozódása okozhat magzati túlnövekedést GDM-ben. Az endothél sejtek upregulált VEGF-A expressziója hozzájárul a diabetes-asszociált placentaris hypervaszcularizációhoz.

#### **1.4.5. GDM kezelése**

A GDM kezelésének célja az anyai és magzati kockázat csökkentése. Ennek érdekében fontos a normális vércukorszintet megközelítő vércukorszint beállítása. A kezelésben résztvevő szakemberek: háziorvos, nőgyógyász, diabetológus szakorvos, diabetológiai szakápoló, dietetikus és perinatológus. A GDM kezelésénél az első lépés az életmód megváltoztatása, ami a megfelelő diétát és a rendszeres fizikai aktivitás bevezetését jelenti. Később, ha ez nem elég a szénhidrát-anyagcsere rendezéséhez, akkor jön szóba a gyógyszeres terápia. Lényeges, hogy a várandós szorosán együttműködjön, naponta 4-6 alkalommal ellenőrizze a vércukorszintjét, illetve a rendszeres vizeletvizsgálat is fontos, amelyben glükózuriát illetve ketonuriát határoznak meg, a nőgyógyász pedig a proteinuria mértékét vizsgálja. A HbA<sub>1c</sub> és a fruktózamin szintjének vizsgálatáról nincs teljes egyetértés az irodalomban, de a glykaemiás kontroll ellenőrzésében mindkét vizsgálat mellett szólnak argumentumok és ellenérvek: a HbA<sub>1c</sub> szint vizsgálat előnye, hogy jól standardizált, ugyanakkor hátrányként értékelhető, hogy a vörösvértest „turnover” megváltozik, ily módon nehezebb standard értékek kialakítása terhesség során. A glikémiás szintek változásának szorosabb követésére lenne szükség, mint a HbA<sub>1c</sub> által tükrözött intervallum. A fruktózamin szint vizsgálat előnye lenne, hogy hozzávetőleges 2-3 hetes intervallumban ad felvilágosítást. Hátránya, a nemzetközi, terhesség alatt megvalósítandó célértékek standardizációjának hiánya, ezért a különböző laboratóriumokban készült értékek összevetése nehezebb. A fruktózamin szint glikált szérum proteinek (főleg az albumin) szintjéről ad felvilágosítást.

##### **1.4.5.1. Diéta**

Az optimális anyagcsere-állapot biztosításához a gondozó orvos és a dietetikus írja elő az étrendet. Célja a szükséges tápanyagok biztosítása az anya és a magzata számára normális vércukorszint értékek mellett. Az étrend meghatározott energia és szénhidrát tartalmú étkezéseket tartalmaz, naponta 6-7 alkalommal. Nem ajánlott alkoholt, koffeint és szacharin alapú mesterséges édesítőszeret fogyasztani.

A szükséges energiabevitel enyhe (kb. 20-30%-os) csökkentése javasolható elhízott kismamáknak, akiknél terhességi cukorbetegség alakul ki. 1600-1800 kalóriás diéta



még nem okoz ketontermelést a szervezetben. Átlagosan a napi optimális energiafelvételt 22-35 kcal/testsúlykg között határozták meg. Figyelembe véve azt a tényezőt, hogy a GDM terhesek gyakran túlsúlyosak sok esetben ennél kisebb energiabevitel is elegendő. A terhesség előtti testsúly függvényében akár 12 kcal/testsúlykg-ig is csökkenthető a napi szükséglet. A terhesség alatti súlygyarapodás ajánlott maximuma 8 kg ilyen szénhidrátanyagcsere-zavarral rendelkező kismamák esetén.

A Magyar Diabetes Társaság ajánlása szerint az első trimeszterben kb. 1500-1600 kcal energiabevitel szükséges naponta a ketonuria elkerüléséhez. Ebben az időszakban testsúlytól függően 140-160 gramm szénhidrát fogyasztandó legfőképp lassan felszívódó szénhidrátokból, magas rosttartalmú ételekből. A második trimeszter kezdetétől 250-300 kcal-val több energia szükséges naponta. Így hozzávetőlegesen 170-190 g szénhidrát fogyasztása ajánlott összesen a második és harmadik trimeszterben.

Az étrend makrotápanyagainak összetétele megegyezik a nem-terhes cukorbetegek részére ajánlottakéval: 50-55% szénhidrát, 25-30% zsír és 20% fehérje. Az Amerikai Diabetes Társaság javaslata szerint ugyanakkor a szénhidrátbevitel csak 40-45% legyen, reggelire kevesebb szénhidrát fogyasztandó, mint ebédre vagy vacsorára. A gyakori, kis mennyiségű szénhidrátot tartalmazó étkezések segítenek az étkezések utáni vércukorcsúcsok mérséklésében. Egy prospektív vizsgálat eredményei szerint a 2-es típusú cukorbetegség megjelenése GDM után szignifikánsan alacsonyabb volt azon anyák esetében, akik egészséges étrendet követtek. Lehetőség szerint a telített zsírsavak kerülendők, szemben a telítetlen zsírsavakkal.

#### **1.4.5.2. Testmozgás**

A terhességi cukorbetegségben szenvedő nők több mint harmadának a kezelése nem oldható meg diétás kezeléssel. A terhesség során rendszeresen végzett fizikai aktivitás mögötti általános motiváció a terhesség alatti súlygyarapodás mérséklése. Azonban általában a várandós nők megvárják a szülés utáni időszakot, hogy megpróbáljanak lefogyni. Sok minden hátráltatja a kismamákat a terhesség alatt végzett testmozgástól: pszichológiai okok, saját fizikumából adódó okok, a munkahely, a család és a környezet. Fizikai edzéssel több úton is javíthatunk a glükóztolerancián. Képes növelni az

inzulinérzékenységet az izmokban inzulin-indukált glükózfelvétel által és a GLUT4 transzporter expresszióra direktén is hatva. A terhesség alatti rendszeres testmozgás képes csökkenteni az éhomi és a postprandialis vércukorszintet, az inzulin szükségletet. A terhelhetőséghez igazodó fizikai tevékenység potenciózza az étrend hatását. Várandósság esetén súlyzós edzés helyett az úszást, a szobabiciklit, a sétálást és a kismamáknak tartott nyújtóedzéseket javasolják. A pulzusszám percenként ne haladja meg a 140-et és egyszerre maximum 30 perc mozgás javasolt, főként étkezéseket követő időszakban. A rendszeres testmozgás a jobb glykaemiás kontrollhoz való hozzájárulásán keresztül csökkentheti a macrosomia előfordulási gyakoriságát és javíthat más metabolikus paramétereket is.

#### **1.4.5.3. Gyógyszeres lehetőségek**

Az inzulin a legelfogadottabb antidiabetikum a terhesség alatt. Nem jut át a placentán, így nem károsíthatja a magzatot sem. A többi vércukorcsökkentő gyógyszerrel kapcsolatban összességében kiemelhető, hogy hiányoznak a hosszú-távú magzati/leszármazotti biztonságosságot bizonyító vizsgálatok, ezért egyes országokban, így hazánkban is inkább kerülik a használatukat terhesség során. Ugyanakkor más, hasonlóan fejlett egészségüggyel rendelkező, országokban (pl. Egyesült Királyság) az akarbóz, a metformin és a sulfonilureák közül a glibenklamid is engedélyezett terhesség esetén.

Összességében nincs egyértelmű adat arra vonatkozóan, hogy egy elegendően nagy „átlagos” GDM populációban milyen arányban van szükség inzulinkezelésre. A 2017-es ADA ajánlás szerint a Carpenter-Coustan/National Diabetes Data Group (NDDG) kritériumrendszerét használva a GDM betegek hozzávetőleg 15-30%-a szorul gyógyszeres kezelésre és ennek az aránynak csökkenését prognosztizálták, arra az esetre, ha az IADPSG/2013-as WHO diagnosztikai kritériumrendszerét bevezetik. [47] Ugyanakkor a nemzetközi vizsgálatunk kapcsán szerzett tapasztalatok azt sugallják, hogy az inzulinkezelési arányok GDM-ben nagyfokban heterogének és főként az adott centrum/ország kezelési gyakorlatától függőek még azonos glykaemiás célértékek mellett is.

Inzulinkezelésre az esetek 20-25%-ában van szükség. Indokolt az adása, ha a következő glykaemiás céltértékek nem érhetőek el: éhomi vércukorszint  $\leq 5,3$  mmol/L és/vagy az étkezés utáni 1 órás célérték  $\leq 7,0$  mmol/L, a 2 órás pedig  $\leq 6,7$  mmol/L 2 hetes megfelelő diéta és életmódterápia ellenére. Ha az éhomi vércukorszint 6-6,9 mmol/L között van magzati szövődménnyel társulva vagy az éhomi vércukorszint  $\geq 7,0$  mmol/L, abban az esetben még a metformin kezelést megengedő országok is inzulinkezelést javasolnak.

A gyógyszeres kezelést étkezések előtti gyors hatású inzulinanalóg adásával kell indítani normál éhomi és emelkedett étkezés utáni vércukorszintek esetén. Enyhébb esetekben előfordulhat, hogy a csak reggeli előtt adott inzulin is elegendő. Súlyosabb esetekben, amikor az éhomi vércukorszint is emelkedett, indokolt elkezdni intermedier inzulin adását is lefekvés előtt. Kezdő dózisként 4-8 NE javasolt belőle. Az inzulininterápia megfelelő dózisa napi 6-7 vércukorméréssel optimalizálható. Átlagosan 12-24 NE szükséges a normoglykaemia fenntartásához.

Az újabb vizsgálatok azt mutatták ki, hogy az előírások szerint biztonsággal használható a lispro- és az aspart-inzulin terhességben is. Azonban a harmadik gyors hatású inzulinanalógról - a glulizinről – egyelőre nem áll rendelkezésre elegendő adat a terhességben való biztonságos alkalmazhatóságához. A hosszú hatású inzulinanalógok közül a detemirin zulin „FDA B” biztonságossági szinttel alkalmazható terhesség alatt.

A terhesség végén az inzulinkezelés aktiválhatja a placenta tápanyag- és zsírsavszállítását a magzathoz, ezért fontos lenne az anyai hyperlipidemia szorosabb kontrollja inzulinnal kezelt GDM terhésekben. [133]

A terhesgondozás során hetente - kéthetente szükséges a diabetológiai ellenőrzés. Ez az éhomi és postprandialis vércukorszint értékek, vizelettel ürített cukor és aceton, továbbá szükség szerint a HbA<sub>1c</sub> és fruktózamin meghatározásából, valamint a kezelési napló áttekintéséből áll. Lényeges a diabetes szövődményeinek és kísérőbetegségeinek a feltárása: microalbuminuria és aszimptomás bakteriuria vizsgálata, szemészeti vizsgálat (a GDM terhesség retinopathia kockázatát nem fokozza, azonban preegzisztáló diabetesesekben ennek rendkívül szoros ellenőrzése javasolt), neuropathia vizsgálata, vérzsír értékek meghatározása.

## **1.5. Az enteroinzuláris tengely jelentősége a szénhidrát-anyagcsere folyamatának szabályozásában**

Nauck és mtsai írták le először az enterális és a vénás glükózterhelésre adott eltérő inzulinválaszt. [134] A bélrendszer L- és K-sejtjei által elválasztott glukagonszerű peptid-1 (GLP-1) és glükózdependens inzulinotrop peptid (GIP) stimulálja a béta-sejtek inzulinelválasztását, és a postprandiális inzulinválasz 50-70%-a hatásukra következik be. [135] Szénhidrát bevitel hatására a vércukorszint emelkedik, amely fokozza a hasnyálmirigy béta-sejtjeiben az inzulin elválasztását. Az inzulin közvetlenül a portális vénán keresztül a májba jut, ahol hatására a glikogénbontás csökken, a glikogénszintézis fokozódik így mérsékelve a májbéli glükózprodukción. A perifériás keringésbe kerülve az inzulin fokozza a glükóz felhasználást elsősorban az izomban. A folyamat eredménye során létrejövő csökkenő vércukorszint mérsékli az inzulin termelést és helyreáll az egyensúlyi állapot.

### **1.5.1. Az enterohormonok és szerepük a szénhidrát-anyagcsere folyamatban. Az inkretinek**

A vércukorszint megfelelő szabályozásához számbelileg és funkcionálisan is ép hasnyálmirigy béta-sejtekre, jól működő máj- és izomsejtekre van szükség. A vércukorszint regulációjában a béta-sejt glükózszenzorának (a glükokináz enzimnek), az ezt követő jelátvitelnek, az inzulinmolekulának, a perifériás inzulinhatásnak (inzulin receptor, a jelátviteli kaskád, a glükóz sejtbe jutását lehetővé tevő transzporterek, a glikogén szintetáz enzim, lipoprotein lipáz enzim) van alapvető szerepe.

Izoglykaemias terhelés esetén (amikor ugyanolyan vércukorszintet érünk el) nagyfokban különbözik a felszabaduló inzulin mennyisége és az elválasztás üteme, ha a vércukoremelkedést glükóz vénás beadásával vagy per os bevitellel érjük el. Per os bevitel esetén lényegesen magasabb az inzulinszekréció, mintha az ugyanolyan fokú vércukorszintemelkedést intravénás glükóz beadásával érjük el. A jelenséget inkretin hatásnak nevezzük, az ezért felelős hormonok pedig az inkretin hormonok (GIP, GLP-1). Az inkretin hatás olyan mértékű is lehet, élettani körülmények között, hogy akár a prandiális inzulinfelszabadulás 70%-át is magyarázhatja. [136-138] Ennek megfelelően,

az inkretin hormonok a normális vércukorszint-szabályozás alapvető tényezői.

A bélből történő felszabadulásukat követően többszörös hatásmechanizmussal képesek befolyásolni a glükóz homeosztázist:

- a glükózfüggő inzulinszekréciónak fokozásával
- a glukagon-elimináció posztprandiális gátlásával
- a gyomorürülés lassításával
- a táplálékfelvétel csökkentésével.

Fokozzák:

- az inzulín bioszintézist
- az inzulinszekréciónak
- a béta-sejt proliferációt. [135]

Gátolják:

- a béta-sejt apoptózist.

Az inkretinek az elfogyasztott táplálék döntően szénhidrát komponensének hatására szabadulnak fel a vékonybél úgynevezett open-type típusú enteroendokrin sejtjeiből (K- és L-sejtek), és inzulinszekréciónak fokozó hatásuk révén felelősek a korai inzulínelimináció több mint 2/3-áért. Az inkretin hatásért két hormonszerű peptid: a GLP-1 és a GIP felelős. Félélettidejük mindössze néhány percre tehető, mert a felszabaduló hormonokat a dipeptidyl peptidáz-4 (DPP4) enzim gyorsan bontja, aminek következtében a fenti biológiai aktivitás megszűnik. Mind a GIP, mind a GLP-1 saját receptorához tud kötődni a béta-sejt felszínén. A GIP koncentrációja étkezés után 5-10-szeresére, a GLP-1 koncentrációja mindössze bazális szintjének 2-3-szorosára emelkedik. [136, 139, 140]

## 1.5.2. A DPP4 szerepe

### 1.5.2.1. A DPP4 fehérje

A humán *DPP4* gén által kódolt fehérje a DPP4 enzim, lymphocyták felszínéhez kötött CD26 (cluster of differentiation 26) molekulaként illetve ADCP2 (adenosine-deaminase complexing protein 2) fehérjeként is ismert. Szolubilis és membránhoz kötött formában fordul elő a szervezetben. [141-143] A DPP4 minden szervben és számos sejten expresszálódik.

Szolubilis formában az epében, a vizeletben, a nyálban és a szérumban található meg. A DPP4 fehérje dimer formában aktív. A DPP4 monomer formában mintegy 220-240 kDa molekulatömegű, de akár 900 kDa molekulatömegű tetramer komplexet is képezhet. A szolubilis forma jelenlegi ismereteink szerint jelentős részben zsírszöveti és hepatikus eredetű lehet. [144, 145] Munkacsoportunk korábban a magasabb DPP4 szérumszintről számolt be inzulinrezisztens nem alkoholos zsírmáj betegeknél (NAFLD) és T1DM-ben. [144, 146]

Membránokhoz kötött formában leginkább az epekanalikulusokban, vékonybélben, vesében, epithelialis- és endothelsejtek, cytotrophoblastok, acináris hám, NK (natural killer) sejtek, hepatocyták, adipocyták, T- és B-lymphocyták felszínén expresszálódik.

A membránhoz kötött DPP4 molekula a 2-es típusú transzmembrán glikoproteinek családjába tartozó szialoglikoprotein, amely többek között csekély szerin-proteáz aktivitással is rendelkezik. A DPP4 egy hidrofób hélix láncsal kötődik a membránhoz, melynek rövid N-terminális vége intracitoplazmatikus elhelyezkedésű. Az enzim specificitására jellemző, hogy minél hosszabb a peptidlánc, annál kevésbé prolin-specifikus az enzim, valamint annál gyorsabban hidrolizálja a szubsztrátot. [141, 142]

Mindkét forma inaktiválja a szénhidrátbevitelt követően szekretálódott inkretin hormonokat. A membránhoz kötött DPP4 nem változik reciprok módon a szolubilis formával. A szolubilis forma nem a membránhoz kötött formáról válik le. Tekintettel a DPP4/CD26 T-sejt aktivációs szerepére [143, 147], feltételezhető, hogy a szolubilis DPP4 szerepe nem csak a szénhidrát-anyagcsere szabályozására korlátozódik. Erre utal

az is, hogy szintje különböző megbetegedésekben eltérően változik. [148]

#### ***1.5.2.2. A DPP4 biológiai szerepe***

A DPP4-nek számos szubsztrátja van, ennek eredményeképpen számos biológiai folyamatban és azok szabályozásában vesz részt. Szerepe van a gyulladásos és immunfolyamatokban, a kardiovaszkuláris és fájdalom szabályozásban, az inkretinek enzimatis hasításával és inaktiválásával a szénhidrátháztartás hormonális szabályozásában is szerepet játszik.

Az enzim aktivitása a különböző megbetegedésekben eltérően változik. Emelkedett a szérum enzimaktivitása sclerosis multiplexben, Graves-kórban [149], Hashimoto-thyreoiditisben, sarcoidosisban, primer biliaris cirrhosisban, krónikus tonsillitisben [150], HIV fertőzésben [151], krónikus C hepatitisben [152], inzulinrezisztens NAFLD betegekben [144] és T1DM-ben.

Korábban csökkent aktivitást ANCA (Anti-neutrophil cytoplasmic antibody) asszociált vasculitisben [153], terápia rezisztens depresszióban [154, 155], szisztémás lupus erythematosusban [156], Crohn betegségben, colitis ulcerosaban mértek. [157]

A membránhoz kötött lymphocita felszíni CD26 expressziót a szolubilis DPP4 aktivitáshoz hasonlóan számos betegségben (immunbetegségben, malignus tumorokkal kapcsolatban) vizsgálták. [158] A CD26-nak a tumoros folyamatban mind aktivációs mind szupresszor hatást tulajdonítanak, szintje ezért mind a szérumban, mind a membránhoz kötött formában emelkedett vagy csökkent lehet. [159] Membránhoz kötött CD26 expresszió fokozódást észleltek ovárium carcinomában [160, 161], 1-es típusú cukorbetegségben [146], csökkent expressziót melanomában [162], rheumatoid arthritisben [163], Sézary szindrómában [164], atopiás dermatitisben, psoriasisban. [165]

### ***1.5.2.3. A DPP4 szerepe a szénhidrát-anyagcserében***

A DPP4 az inkretin hormonok bontásával befolyásolja az enteroinzularis-tengely működését. Firneisz és mtsainak korábbi megfigyelése, amely szerint a szérumban szolubilis DPP4 aktivitás és a HOMA-IR között szignifikáns pozitív korreláció áll fenn inzulinrezisztens NAFLD betegekben. Lamers és mtsai in vitro a DPP4 inzulinrezisztenciát előidéző, adipokinszerű hatását írták le zsír- és vázizomsejteken úgy, hogy inkretinhormonok nem voltak a vizsgált rendszerben, amely a DPP4 meghatározó szerepét valószínűsíti az NAFLD-hez kapcsolódó perifériás inzulinrezisztencia kialakulásában. [145] Emellett az enzim a GLP-1 molekuláról az első két aminosavat (egy hisztidint és egy alanint) hasítja le, inaktiválva ezáltal a vegyületet. A hasítás eredményeképpen létrejövő metabolit már nem rendelkezik inzulinotróp hatással. Fokozott DPP4 enzimaktivitás a biológiailag aktív, intakt GLP-1 szint redukciójához vezet, ezért az inzulin elválasztás fiziológiás redukcióját okozza. Az enzim működésének eredményeként az inkretinek hatása csak néhány percig tart, így az inkretinek által okozott inzulinszekréció fokozódás T2DM-ben nem minden esetben elég az emelkedett vércukorszint normál tartományba csökkentéséhez és az inkretinek további béta-sejtekre irányuló jótékony hatásai is kevésbé érvényesülhetnek.

### **1.5.3. A GLP-1 hormon szerepe**

A GLP-1 hormon a vékonybél disztális (ileum) illetve a vastagbél proximális szakaszán, a bélnyálkahártya specifikus, úgynevezett open-type enteroendokrin L-sejtjeiből, szénhidrátot, illetve lipidet tartalmazó ételek fogyasztásakor szabadul fel. Féléletideje mindössze 1-2 perc, plazmakoncentrációja 20-30 perccel a táplálék elfogyasztása után megemelkedik. Maximumát étkezést követő 60. percben éri el. A hormon mintegy felét az L-sejtek közvetlen közelében található kapilláris membrán endothel felszínén lévő DPP4 enzim szinte a szekréció pillanatában parakrin módon bontja. Plazmakoncentrációjának korai emelkedéséért - amikor a táplálék a disztális vékonybélrendszert még nem érte el - a vékonybél proximális részén felszabadított GIP illetve az annak L-sejtekre kifejtett hatása felelős. A véráramba kerülő GLP-1-et a specifikus GLP-1 receptor köti meg, mely megtalálható többek között az alfa- és béta-



sejteken, a gyomor, vékonybél nyálkahártyájának sejtjein, a myocardium izomsejtjein, a hypothalamus neuronjain és az agy számos régiójában. [136, 166] A GLP-1 a GIP-hez hasonlóan glükóz függő módon fokozza az inzulin bioszintézisét, az inzulinszekrúciót, a glükokináz aktivitást és a GLUT2 glükóztranszporter expressziót is a béta-sejteken.

Számos vizsgálat felvetette, hogy 2-es típusú diabetesben károsodott inkretin hatással számolhatunk. A 2-es típusú diabeteses betegeket vizsgálva csökkent plazma inkretin hatást mértek, melyet nem tartottak a T2DM közvetlen manifesztálódási okának. Mások a károsodott GLP-1 szekrúciót a betegség egyik meghatározó, kezdeti elváltozásának tartják. [137, 167] Lencioni és mtsai szignifikánsan alacsonyabb plazma GLP-1 szekrúcióról számolnak be az OGTT 180-ik percében GDM-ben a kontroll terhesekhez viszonyítva (GDM:  $21,6 \pm 9,57$  pmol/L vs. kontroll:  $37,08 \pm 23,4$  pmol/L,  $p < 0,05$ ), és ez az eltérés posztpartum is megmarad. [168] Egy másik vizsgálat az éhomi GLP-1 koncentrációban írt le magasabb értéket a GDM csoportban, azonban a GLP-1 válaszból ők nem találtak szignifikáns eltérést a GDM és kontroll csoport között. [169] Mindkét vizsgálat alacsony mintaelemszámot használt, ezért következtetések nem teljes mértékben tükrözik a valós eltéréseket.

#### **1.5.4. A GIP hormon élettani szerepe**

A GIP a duodenum és a jejunum open-type enteroendokrin K-sejtjeiből szekretálódik. A szekrúciót a GLP-1-hez hasonlóan itt is az enterálisan bevitt glükóz és további tápanyagok stimulálják. [156] A GIP-et az endotheliumban megtalálható DPP4 a 2. és 3. N-terminális aminosav között hasítja és bontja. Félélettideje fiziológiás körülmények között 5-7 perc. A degradációs termék, a GIP inaktív, nem stimulálja az inzulin elválasztást. A GIP eddig ismert összes hatása a GIP receptoron keresztül érvényesül, amely leginkább a pancreas alfa- és béta-sejtjein, a felső gastrointestinális traktusban, adipocyták felszínén, a mellékvesekéregben, az agy különböző régióiban leginkább a hipofízisben található meg. [136, 139, 140, 166]

## 2. Célkitűzések

### ***I. DPP4-inkretin rendszer vizsgálata GDM és kontroll (75 g OGTT során normális szénhidrát anyagcseréjű) terhességből született újszülöttekben***

Ezzel összefüggésben a következő célokat tűztük ki:

I/1. DPP4 KZS szérum:

- megmérjük a GDM terhességből születettek KZS vérében mért szérum DPP4 enzimaktivitást és a nem GDM terhességből születettek KZS szérum DPP4 enzimaktivitását
- amennyiben a DPP4-nek mérhető enzimaktivitása van a KZS szérumban, akkor a két csoport aktivitás értékeit egymással összehasonlítjuk

I/2. GLP-1 KZS plazma:

- ezzel összefüggésben megmérjük a GDM terhességből születettek KZS vérplazma biológiailag aktív GLP-1<sup>7-36</sup> koncentrációt és a nem GDM terhességből születettek aktív GLP-1<sup>7-36</sup> koncentrációit
- amennyiben a GLP-1<sup>7-36</sup> koncentráció mérhető KZS plazmában, a két csoport koncentrációit egymással összehasonlítjuk.

### ***II. MTNR1B rs10830963 anyai génvariáns szerepének vizsgálata GDM-ben***

Lehetőségem volt bekapcsolódni egy nagyobb volumenű nemzetközi vizsgálatba (EFSD New Horizons), amelynek célja 77, korábban 2-es típusú diabeteshez, GDM-hez vagy egyéb releváns metabolikus jelleghez asszociált génvariáns szerepének vizsgálata volt GDM kialakulásában egy osztrák-magyar terhespopulációban. A vizsgálatban való részvételem kapcsán lehetőségem adódott arra, hogy az *MTNR1B* rs10830963 génvariáns szerepére vonatkozó eredményeket magyarul a doktori tézisem kiegészítő részeként bemutassam.

### **3. Módszerek**

#### **I. Köldökzsínór DPP4 szérumaktivitás és aktív GLP-1<sup>7-36</sup> plazmaszint vizsgálata GDM és nem GDM terhességből született egyénekből**

##### **3.1.1. Vizsgálatba bevont személyek**

A vizsgálatban résztvevő alanyokat a budapesti Semmelweis Egyetem II. Belgyógyászati Klinikájáról, az I. sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikájáról, majd a vizsgálat későbbi szakaszában a budapesti Szent Imre Egyetemi Oktatókórház Szülészeti és Nőgyógyászati Osztályáról vontuk be (ETT TUKEB szám: 485/PI/11., 15100-2/2011-EKU). A nemzetközi vizsgálat jellegéből fakadóan a betegek egy részét a bécsi Allgemeines Krankenhaus Szülészeti Osztályáról vonták be az EFSD vizsgálatba. Vizsgálatunkba összesen 568 (210 GDM, 358 kontroll) várandóست vontunk be a 24-28. terhességi hét között végzett 75 g OGTT követően, írásos tájékoztató biztosítása és a beleegyező nyilatkozat aláírását követően. Mintavétel sajnos csak kevesebb újszülöttnél volt lehetséges különböző okok miatt: beleegyező nyilatkozat visszavonása, KZS punctió elmulasztása, szülészeti szituáció adta vagy egyéb technikai körülmények. A sDPP4 meghatározására 270 (159 kontroll, 111 GDM) KZS szérum mintában került sor. A biológiailag aktív GLP-1<sup>7-36</sup> plazmaszint meghatározása céljából 112 (40 GDM, 72 kontroll) anya újszülöttjétől gyűjtöttünk KZS vérmintát.

##### **3.1.2. GDM diagnózisa és kontroll csoport**

A várandóستokat a terhesség 24-28. hete között végzett OGTT eredménye alapján soroltuk be GDM illetve kontroll csoportba, ahol a kontroll azt jelenti, hogy az OGTT eredmény nem kóros és a terhesség során később sem igazolódott GDM vagy „overt diabetes”.

## 3. táblázat: OGTT diagnosztikai kritériumrendszerek

Vizsgálati ország	OGTT 0' (mmol/L)	OGTT60' (mmol/L)	OGTT 120' (mmol/L)	Alkalmazott OGTT diagnosztikai kritériumrendszer
Magyarország	≥6,1		≥7,8	módosított 1999-es WHO
Ausztria	≥5,1	≥10,0	≥8,5	IADPSG

A cukorterhelés Magyarországon és Ausztriában egyaránt 75 g-os OGTT módszerrel történt. Magyarországon az 1999-es módosított WHO kritériumrendszer szerint a 0 és 120 perces (éhomii  $\geq 6,1$  mmol/L, 120'  $\geq 7,8$  mmol/L), Ausztriában pedig a 2011-es IADPSG kritérium szerint a 0, 60 és 120 perces (éhomii  $\geq 5,1$  mmol/L, 60'  $\geq 10,0$  mmol/L, 120'  $\geq 8,5$  mmol/L) vércukor értékek alapján történt a szűrés. Vizsgáltuk azt is, hogy kik azok, akik a WHO és az IADPSG határértékei alapján is terhességi cukorbetegnek minősülnek (2. táblázat).

### 3.1.3. Mintavételi módszerek

A maternalis vérvételek cubitalis vénából történtek. A DPP4 enzimaktivitás meghatározásához használt vérmintákat natív, alvadásgátló-mentes kémcsövekbe gyűjtöttük, majd az ebből, centrifugálást követően, nyert szérumot használtuk.

Az aktív GLP-1<sup>7-36</sup> meghatározása során alkalmazott vérminták gyűjtése egy speciális kémcsöbe történt, amely EDTA-t, sitagliptint és proteáz-inhibitor cocktailt (Sigma Aldrich, P8340; összetétel: 4-(2-Aminoethyl) benzenesulfonyl fluoride hydrochloride, aprotinin, bestatin hydrochloride, N-trans-Epoxy succinyl-L-leucine 4-guanidinobutylamide, leupeptin hemisulfate, pepstatin A) tartalmazott. Az így elkészített GLP-1 prezervációs csöveket jégen tároltuk a vérvételt megelőzően és a mintavételt követően ugyanacsak hűtve tároltuk a centrifugálásig a GLP-1 bomlásának mérséklése érdekében. A plazma mintákból legfeljebb 30 percen belül centrifugálással (20 perc, 2000 rpm) különválasztottuk a plazmát, amelyet ezt követően átmenetileg -20

C°, majd -80 C°-on tároltuk. A mintákat vonalkóddal jelöltük és az etikai engedélynek megfelelően anonimizált formában tároltuk.

A KZS mintákat a szülés után azonnal, a köldökzsinór elszorítását követően a V. umbilicalisból vettük le a korábban részletezett kétféle mintavételi csőbe.

### **3.1.4. Rutin klinikai paraméterek meghatározásának módszerei**

#### ***3.1.4.1. Laborparaméterek meghatározása***

A Semmelweis Egyetem Központi Laboratóriumában történt rutin hematológiai laboratóriumi paraméterek meghatározása Siemens ADVIA 2120 Hematology System (Erlangen, Németország), az éhomi és postprandiális plazma glükózértékek meghatározása Beckman Coulter AU5800 Clinical Chemistry System (Brea, CA, AEÁ) berendezéssel történtek.

A HbA<sub>1c</sub> mérések Bio-Rad Variant II Turbo Hemoglobin Testing System (Hercules, CA, AEÁ) berendezésen, az IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) módszertani előírásainak megfelelően történtek.

A szérum C-peptid koncentrációk meghatározása Liaison XL Chemiluminescence Analyzer (Dia Sorin, Saluggia, Italy) berendezéssel történtek.

A minták egy részében az OGTT vizsgálat, a rutin hematológiai paraméterek és a HbA<sub>1c</sub> meghatározása nem minden esetben a Semmelweis Egyetem Központi Laboratóriumában történt.

#### ***3.1.4.2. Újszülöttek percentiliseinek számolása***

Az újszülöttek születési súlya alapján a születési hétnak megfelelően számolhatjuk ki a percentiliseket. Vizsgálatunkban a születési súly percentiliseinek meghatározásában nemzetközileg elfogadott programot használtunk. A 40. héten a 3340 és 3500 g-os magyarországi lány és fiú újszülött átlagokat használtuk a percentilisek számolása során. A 10-es percentilis alattiakat SGA (small for gestational age), a 90-es percentilis fölöttieket pedig LGA (large for gestational age), a kettő közötti tartományba esőket pedig AGA (appropriate for gestational age) kategóriákba soroltuk. [170]

### 3.1.4.3. Anyai és újszülött klinikai paraméterek

A kontroll és GDM-es várandósokat a vizsgálatban résztvevő intézmények szülészeti osztályairól és járóbeteg rendelésein, önkéntes alapon vontuk be. Minden résztvevő beleegyező nyilatkozatot írt alá. Ezt követően egy, a munkacsoport által korábban összeállított kérdőív segítségével részletes anamnézis-felvétel történt. A kérdőív általános anamnézisre, nőgyógyászati anamnézisre, a jelen terhességre, az újszülöttre és rizikótényezőkre vonatkozó kérdéseket tartalmazott.

Általános anamnézis: életkor, testmagasság, terhesség előtti testsúly és BMI, súlygyarapodás a terhesség alatt, alkoholfogyasztás és dohányzás terhesség alatt, krónikus betegség, rendszeresen szedett gyógyszerek, gyógyszerallergia, DM előfordulása vérrokonok között, pregesztációs anamnézis (kardiovaszkuláris-, tüdő-, GI-, vese-, pajzsmirigybetegség, Addison-kór, laktóztolerancia, coeliakia) etnikai hovatartozás (a beteg által megjelölt önbesorolási csoport fakultatív jellegű).

Nőgyógyászati anamnézis: menarche ideje, menstruációs ciklus hossza, menses hossza, terhességek és szülések száma, művi és spontán abortuszok száma, IVF, előző terhességben  $\geq 4000$  g vagy LGA újszülött, előző terhességben GDM, inzulin kezelés előző terhesség alatt, előző terhességnél fejlődési rendellenesség, PCOS.

Jelen terhesség: terhességi kor, a szülés hányadik héten történt, szülés módja, magas vérnyomás, oligo- vagy polyhydramnion, szénhidrát diéta, inzulinkezelés, microalbuminuria, ketonuria, acetonuria, glükózuria, húgyúti fertőzés, vulvovaginitis, thrombosis, neuropathia, nephropathia, retinopathia, lázas megbetegedés, hospitalizáció, szteroid kezelés, TORCH-szűrés (Toxoplasma gondii, Rubeola vírus, Cytomegalovírus, Herpes Simplex vírus szűrés).

Újszülött: nem, születési súly, gesztációs kornak megfelelő súlypercentilis érték, születési testhossz, perinatalis hypoglykaemia, válllakadás, egyéb perinatalis sérülések, intenzív neonatalis ellátás, sárgaság (totál Bi, direkt Bi), IRDS (újszülöttkori respirációs distressz szindróma), egyéb kongenitalis abnormalitás, ikerterhesség, az édesapa családi anamnézisében diabetes, Apgar érték (1 és 5 perces), UH paraméterek (20. terhességi hét).

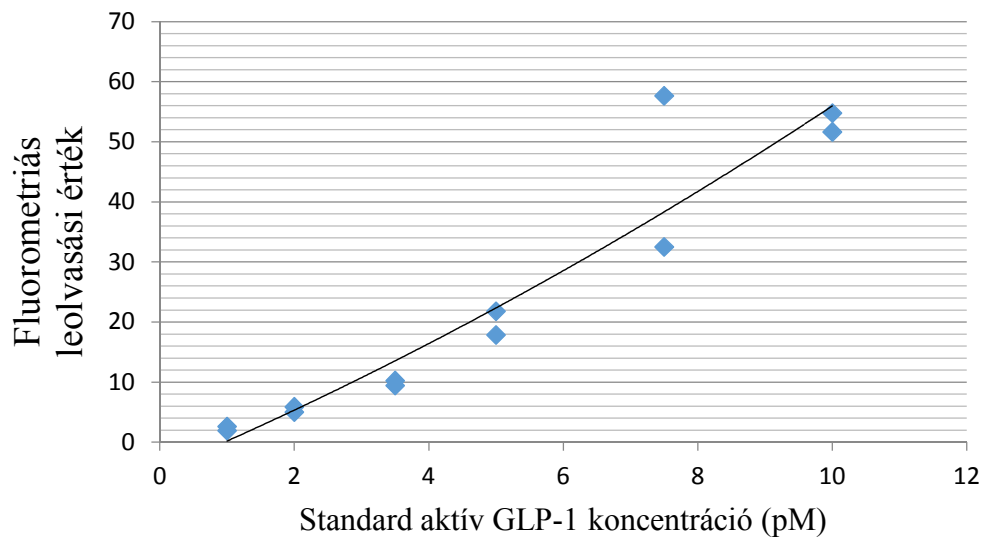
### 3.1.5. DPP4 szérumból enzimaktivitás meghatározása

A DPP4 enzimaktivitás meghatározása microplate alapú kinetikus módszerrel történt 96 wellben. Wellenként 9,4  $\mu\text{L}$ -nyi KZS szérumból mintát használtunk fel. Szubsztrátként Gly-Pro-pNA-t (Glycin-Prolin-Paranitroanilin) használtunk. A mérések duplikátumban történtek, teljes reakcióvolumen 125  $\mu\text{L}$ , a Gly-Pro-pNA tozilát (Bachem, Bubendorf, Svájc) végső koncentrációja 2 mmol/L volt, pufferként 115,6  $\mu\text{L}$  7,6 pH, 10 mM Tris-HCl-t használtunk. A felszabaduló pNA mérés 404 nm-en, 37 °C-on, Varioskan Flash (Thermo Scientific) berendezéssel történt 7'30'' időközökkel, összesen 30 perc időtartammal. Az enzimaktivitást nmol/mL/min (U/L) mértékegységben adtuk meg, amelyet a pNA hidrolízisből számoltunk ki.

### 3.1.6. GLP-1<sup>7-36</sup> plazma koncentrációk mérése

A GLP-1<sup>7-36</sup> ("aktív") KZS plazma koncentrációk meghatározására standard ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) kittel került sor (Merck Millipore, MA, USA, GLP-1<sup>7-36</sup>: EGLP-35K, total GLP-1: EZGLP-1T-36K) a gyártó ajánlásainak megfelelően, minden mérés duplikátumban történt 100  $\mu\text{L}$  KZS plazma minta felhasználásával, 2-100 pM közötti standard GLP-1 koncentráció alkalmazásával. A fluoreszcencia leolvasása 355 nm/ 460 nm hullámhosszon történt Varioskan Flash (Thermo Scientific) berendezéssel. A KZS aktív GLP-1 koncentrációt pmol/L mértékegységben fejeztük ki.

Tekintettel arra, hogy az aktív GLP-1 ELISA mérések során a standard koncentrációkkal végzett görbék R-négyzet értékei típusosan 96% fölöttiek voltak, valamint a gyártóhoz képest többlet kalibrációs pontokat is (1 pM; 3,5 pM; 7,5 pM-os oldatokkal) beillesztettünk a standard hígítási sorba (2-5-10-20-50 pM), mérési hibát nem valószínűsítünk (4. ábra).



4. ábra: Aktív GLP-1 ELISA mérések standard koncentrációinak kalibrációs görbéje a gyártó által biztosított (2-5-10 pM), illetve ezenfelül végzett többlet kalibrációs pontokkal az alacsonyabb koncentráció tartományban

A gyártó által megadott legalacsonyabb standard koncentrációs oldat 2 pM-os volt, az átlagértékek előlött helyezkednek el, de az aktív GLP-1 hormon KZS-vérben mért koncentrációinak a hivatalos kalibrációs szélsőértékhez való közelsége miatt, a mérési hiba lehetőségét az aktív GLP-1 szintek esetében teljes bizonyossággal kizárni elméletben nem lehet.

### 3.1.7. Statisztikai értékelő módszerek

A DPP4 és GLP-1 eredmények adataeloszlásának vizsgálatára a Shapiro-Wilks és Kolmogorov-Smirnov tesztet alkalmazva határoztuk meg a normalitást. Nem-paraméteres Mann-Whitney U teszt segítségével hasonlítottuk össze az átlagokat és határoztuk meg a különbségeket a normal eloszlást nem mutató változók esetében, valamint kétmintás T-próbával egymástól független, normál eloszlású változók esetén. Kruskal-Wallis ANOVA és Newman-Keuls post-hoc próbát alkalmaztunk többszörös összehasonlítás, valamint Pearson és Kendall Tau tesztet a lehetséges korrelációk



vizsgálata során. A DPP4 adatok eloszlásában észlelt pozitív ferdeség, illetve a felnőttekben a májfunkciós enzimekkel megfigyelhető közös jellemzők miatt [144], a DPP4 enzimaktivitás értékeinek logaritmikus átalakítását is elvégeztük. A DPP4 és GLP-1 eredmények statisztikai erejét is kiszámoltuk. A Statistica (10. verzió, StatSoft) statisztikai elemző szoftver segítségével történtek a számítások.

## II. *MTNR1B* rs10830963 génvariáns vizsgálata

### 3.2.1. Vizsgálatba bevont személyek

Az EFSD New Horizons nemzetközi program [171] keretében 960 (vizsgálatból való kizárás és dropoutok után 820). várandós nő vizsgálatba való bevonása történt, két ország összesen három vizsgálócentrumából. A két országból (Magyarország, Ausztria) bevont személyek mindkét GDM kritériumrendszer szerint reklasszifikálva lettek. Ezt követően az esetszámok a következőképpen alakultak: módosított 99' WHO kritériumok szerint 303 GDM, 517 kontroll, IADPSG kritériumok szerint 287 GDM, 533 kontroll) várandós nő lett bevonva az eset-kontroll vizsgálatba.

### 3.2.2. DNS izolálási technika

A genomiális DNS izolálása mágneses gyöngy alapú technikával (Hamilton Robotics, Magna Starlet), DNS izoláló mag<sup>TM</sup> kit (LGC) segítségével történt. A módszer alkalmas nukleinsavak kinyerésére különböző típusú mintákból (nyál, nyálkahártya, haj, amnionfolyadék, sejtszövet, mikroorganizmus). Jelen vizsgálatban összesen 200  $\mu$ L EDTA-val antikoagulált vérmintából történt a genomiális DNS izolálása. A protokoll a gyakori technológián alapul, amely során a DNS mágneses részecskékhez kötődik, miközben a szennyeződések eltávolítása só és alkohol alapú buffer folyadékkal, majd egy végső elució lépéssel történik. A DNS mágneses részecskékhez kötött nukleinsav izolálási módszer előnye, hogy gyors, könnyen automatizálható és a manuális izolálási módszerekhez képest kevesebb vérmennyiség is elegendő, illetve nagyobb mennyiségű DNS izolálható.

### 3.2.3. Az *MTNR1B* genotipizálás

PCR-alapú KASP genotipizáló próba (FRET, LGC Genomics) alkalmazásával valósult meg az egyes SNP-k genotípusának meghatározása. A Kompetitív allél specifikus PCR genotipizáló rendszer (KASP™) homogén, fluoreszcenciát alkalmazó, végpont genotipizálási technológia. A KASP genotipizáló módszer két összetevőből áll:

- SNP specifikus KASP assay mix: két különböző, allélspecifikus, forward és egy reverse primert tartalmaz
- a különböző allélspecifikus forward primereket különböző jelölőkkel látták el (pl. FAM és HEX)
- univerzális KASP Master mix: FRET kazettát és Taq polimerázt tartalmaz optimalizált buffer oldatban.

Az assay összetevői: DNS minta, KASP assay mix és KASP master mix.

A PCR első lépése az allélspecifikus primerek és a cél SNP összekapcsolódása, majd a reverz primer által a célzott régió amplifikációja. Ezt követően egy kiegészítő kópia készül az allélról. A PCR további lépéseiben az allélspecifikus szakaszok meghosszabbodnak. A FRET kazetta jelölt része komplementáris az új allélrésszel, ehhez kötődik, ezt követően a megfelelő szignál detektálhatóvá válik.

### 3.2.4. Statisztikai értékelő módszerek

Az *MTNR1B* genotípus eredmények társulását a bináris jelleggel (beteg / nem beteg) logisztikai regressziós kockázati modellel, a kvalitatív jellegeket pedig lineáris regressziós modellel vizsgáltuk. Az analízist additív és domináns genetikai modellek szerint is értékeltük. Esélyhányadosokat (OR) és p-értéket számoltunk, a p-értékeket Benjamini-Hochberg módszerrel korrigáltuk. A Hardy–Weinberg egyensúlytól (HWE) való deviációt Khi négyzet próbával vizsgáltuk. Tekintettel arra, hogy a nemzetközi vizsgálatban két különböző GDM diagnosztikai kritériumrendszer is használatban volt, a fenti analízist elvégeztük mindkét diagnosztikai (99' WHO és IADPSG) kritériumrendszernek megfelelően. Erre azért volt lehetőségünk, mert az OGTT előtt a nemzetközi vizsgálatban nem történt orvosi beavatkozás, a genetikai asszociációt ez és a genetikai információ stabilitása tette lehetővé, tekintettel arra, hogy az OGTT értékek közvetlenül mindkét országból hozzáférhetőek voltak. Az asszociációs vizsgálat

eredményét életkorra korrigálva, valamint életkorra és BMI-re korrigálva is megadtuk. A csak életkorral való korrigálás magyarázatát az adta, hogy a (*MTNR1B* génvariáns mellett) teljes vizsgálat SNP halmazban voltak olyan génvariánsok, amelyek elsődleges asszociációt mutattak a BMI-vel, és ilyen variáns hordozása esetén a GDM betegségre való kockázat növekedése ún. okozati láncon keresztül is történhet, amikor nem indokolt a BMI-re való korrigálás. Az *MTNR1B* rs10830963 génvariánsa azonban a BMI-vel primer asszociációt nem mutatott. [172]

## 4. Eredmények

### I. Köldökzsínór DPP4 szérumaktivitás és aktív GLP-1<sup>7-36</sup> plazmaszint vizsgálat

#### 4.1.1. Bevont betegek és újszülöttek klinikai jellemzői

##### 4.1.1.1. Maternalis eredmények

###### 4.1.1.1.1. Éhomi és 120. perces vércukorérték

A 24-28. terhességi héten mért OGTT értékek plazma glükóz 0': 4,40 (95% CI: 4,35-4,45, n=330) vs. 5,0 (95% CI: 4,91-5,09, n=199) mmol/L; 60' (csak Ausztria): 6,77 (95% CI: 6,51-7,02, n=135) vs. 9,49 (95% CI: 9,11-9,88, n=114) mmol/L; 120': 5,48 (95% CI: 5,36-5,60, n=330) vs. 7,7 (95% CI: 7,55-8,02, n=199) mmol/L eltérést (MWU,  $p < 10^{-4}$ ) mutattak a kontroll vs. GDM csoportokban.

###### 4.1.1.1.2. BMI

A terhesség előtti BMI a kontroll csoportban (23,49 kg/m<sup>2</sup> (95% CI: 23-23,98), n=326) szignifikánsan (t-teszt,  $p < 10^{-4}$ ) alacsonyabb volt a GDM csoporthoz viszonyítva (27,77 kg/m<sup>2</sup> (95%CI: 26,14-29,41), n=195).

###### 4.1.1.1.3. Átlagéletkor

Az életkor a tankönyvi adatoknak megfelelően a kontroll csoportban (31,44 év (95% CI:30,89-32,0), n=358) szignifikánsan (t-teszt,  $p=0,003$ ) alacsonyabb volt, mint a GDM-es csoportban (32,85 év 95%CI: 32,09-33,6), n=210).

###### 4.1.1.1.4. HbA<sub>1c</sub>

HbA<sub>1c</sub> érték meghatározása nem történt minden esetben rutinszerűen, Ausztriában 70 betegben (5,35% (95% CI: 5,25-5,45) / (35 mmol/mol (95% CI: 33,9-36,1)),

Magyarországon 43 GDM betegben (5,14 % (95% CI: 5,03-5,25) / (32,7 mmol/mol (95% CI: 31,533,99)) történt HbA<sub>1c</sub> szint meghatározás.

A fenti eredményeket, továbbá a terhesség alatti testsúlygyarapodást a 3. táblázatban tüntettük fel.

4. táblázat: A GDM és a kontrollcsoport klinikai jellemzőinek összehasonlítása a 3.1-es vizsgálati populációkban

	<b>Időpont/Csoport</b>	<b>n</b>	<b>Átlag</b>	<b>95% CI</b>
<b>75 g OGTT plazma glükózértékek GDM csoport (mmol/L)</b>	0'	199	5	4,91-5,09
	60'	114	9,49*	9,11-9,89
	120'	199	7,78*	7,55-8,02
<b>75 g OGTT plazma glükózértékek kontroll csoport (mmol/L)</b>	0'	330	4,40*	4,35-4,45
	60'	136	6,77*	6,51-7,02
	120'	330	5,48*	5,36-5,60
<b>Terhesség előtti BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	GDM	195	27,77*	26,15-29,41
	Kontroll	326	23,49	23-23,98
<b>Anyai életkor (évek)</b>	GDM	210	32,85**	32,09-33,60
	Kontroll	358	31,44	30,89-32,00
<b>Terhesség alatti súlygyarapodás (kg)</b>	GDM	181	10,15***	8,78-11,51
	Kontroll	326	11,94	11,22-12,66
<b>HbA<sub>1c</sub> [% (IFCC egység - mmol/mol)]</b>	Magyarország	43	5,14 (32,7)	5,03-5,25 (31,5-33,9)
	Ausztria	70	5,35 (35)	5,25-5,45 (33,9-36,1)

\*  $p < 10^{-4}$  (t-próba, MWU), \*\*  $p = 0,0031$  (kétmintás t-próba), \*\*\*  $p = 0,012$  (kétmintás t-próba)

#### 4.1.1.1.5. Terhességi hét a szüléskor

Az átlag terhességi héteknben észlelt eltérés a GDM (38,63 hét, 95% CI: 1,17–1, 53) és a kontroll csoportban (38,99 hét, 95% CI: 1,16–1,32) csak statisztikai szempontból volt szignifikáns ( $p=0,025$ ).

#### 4.1.1.2. Újszülött eredmények

##### 4.1.1.2.1. LGA, AGA és SGA újszülöttek aránya a kontroll és a GDM csoportban

A magyar GDM-es csoportban ( $n=90$ ) és a kontroll csoportban ( $n=194$ ) az LGA újszülöttek előfordulása szempontjából (22,22% vs. 23,71%) nem volt szignifikáns különbség. Az osztrák terhespopulációban sem tért el az LGA újszülöttek aránya (24,17% vs. 20,12%) a kontroll ( $n=164$ ) és GDM ( $n=120$ ) vizsgálati csoportokban. Az SGA arányok a következőképpen alakultak Magyarországon és Ausztriában: (5,67% vs. 2,44%) a kontroll ( $n=194$ ) és (5,56% vs. 4,17%) GDM ( $n=164$ ) csoportban, és az SGA arányokban sem mutatkozott statisztikailag szignifikáns különbség a kontroll és a GDM populációk között. A két ország (ehhez a vizsgálathoz tartozó, de a későbbiekben bővített) újszülöttpopulációjának összehasonlításakor a nem GDM csoportba kerülő résztvevők között Magyarországon szignifikánsan alacsonyabb volt az AGA csoportba tartozó újszülöttek aránya, mint Ausztriában (70,6% vs 77,4%,  $p < 0,05$ , Kruskal-Wallis, Newman-Keuls post hoc) (4. táblázat).

5. táblázat: LGA, AGA, SGA újszülöttek aránya a két ország kontroll és GDM csoportjában

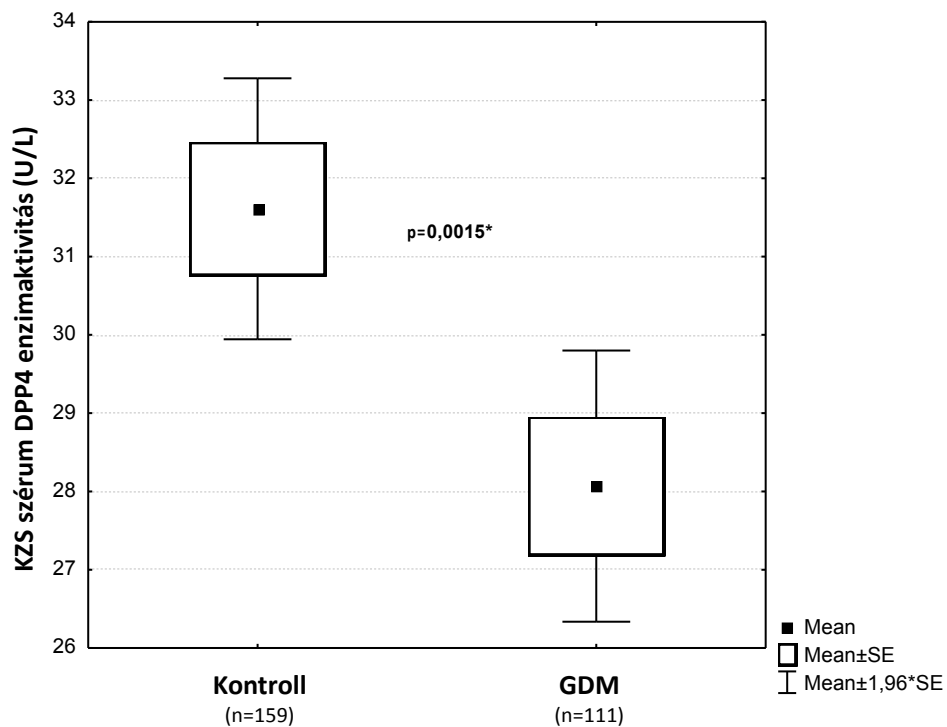
Magyarország (99' mWHO)	LGA (%)	AGA (%)	SGA (%)	Ausztria (IADPSG)	LGA (%)	AGA (%)	SGA (%)
GDM ( $n=90$ )	22,22	72,22	5,56	GDM ( $n=120$ )	24,17	70,0	4,17
Kontroll ( $n=194$ )	23,71	70,62	5,67	Kontroll ( $n=164$ )	20,12	77,4	2,44

#### 4.1.1.2.2. C-peptid

Nem találtunk szignifikáns eltérést az újszülöttek köldökzsínórvéréből mért C-peptid érték elemzése során a GDM (átlag=1,46 ng/mL, 95% CI: 1,04-1,88 ng/mL, n=87) és kontroll (1,29 ng/mL, 95% CI: 1,16-1,43 ng/mL, n=159) csoport között (MWU teszt).

#### 4.1.2. Köldökzsínórvér szérum DPP4 aktivitás

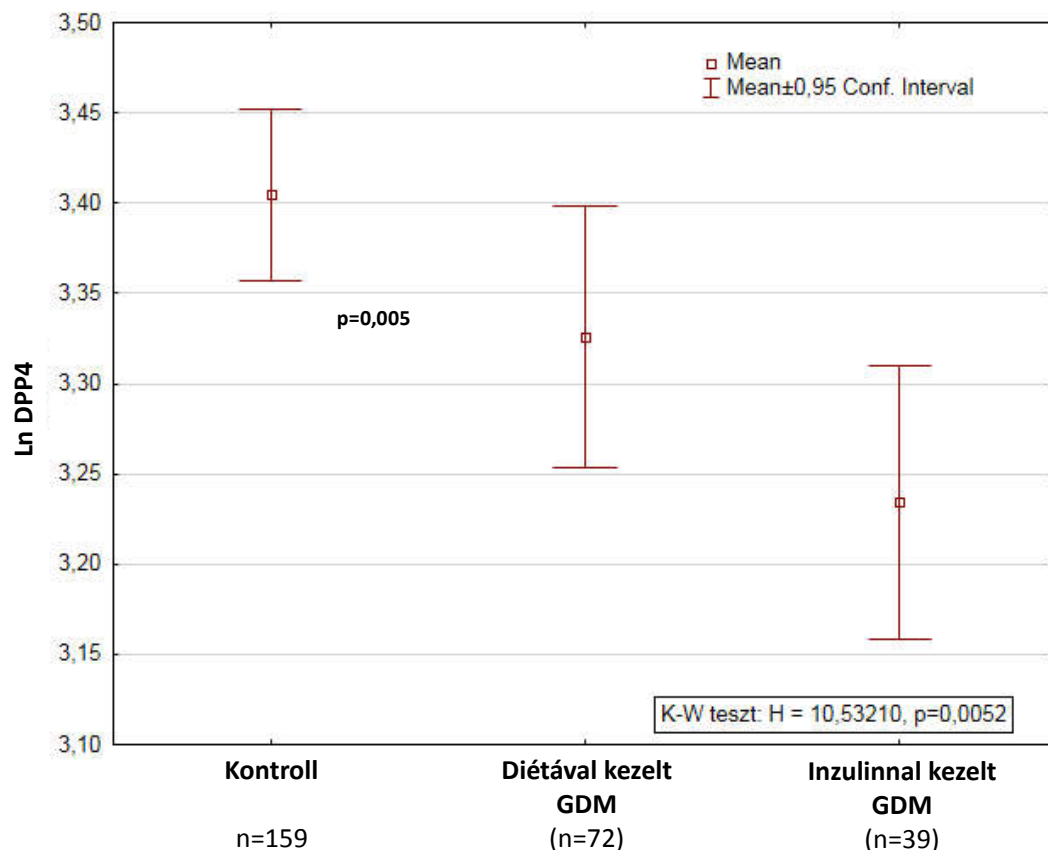
A sDPP4 aktivitás GDM KZS szérumban (átlag=28,1 U/L (95% CI: 26,3–29,8), n=111) alacsonyabb, mint a kontrollokban (átlag=31,61 U/L (95% CI: 29,9–33,3), n=159, p=0,0015, MWU). A statisztikai erőt is meghatároztuk a talált eltérések értelmezése során, amely 81%-osnak bizonyult. Az átlag LnDPP4 érték szignifikánsan (MWU, p=0,0015) alacsonyabb maradt a GDM csoportban (átlag=3,29) a kontroll csoporthoz (átlag=3,41) viszonyítva (5. ábra).



5. ábra: Köldökzsínór szérum DPP4 enzimaktivitás változása GDM és nem diabeteses terhességből született egyéneknél



A kezelés típusa szerint (inzulin terápia vagy diéta) egy alcsoport analízist végeztünk, és a következő eredményeket kaptuk: a legalacsonyabb LnDPP4 érték az inzulinnal kezelt (átlag=3,245, 95% CI: 3,17–3,32, n=39) GDM csoportban, ennél magasabb érték az inzulinnal nem kezelt GDM csoportban (átlag=3,32, 95% CI: 3,25–3,40, n=72), a legmagasabb LnDPP4 érték a kontrollokban (átlag=3,41, 95% CI: 3,36–3,45, n=159, Kruskal-Wallis,  $p=0,005$ ) volt (6. ábra).



6. ábra: Köldökzsínór szérumban DPP4 enzimaktivitás változása GDM terhességből született egyéneknél a kezelés típusa szerint és nem diabetikus terhességből született egyéneknél

A különböző diagnosztikai kritériumok hatásának vizsgálata céljából, a GDM és kontroll csoportokban a KZS szérumban DPP4 aktivitásában talált eltéréseket újraszámoltuk a módosított 99' WHO kritérium osztrák csoportban, illetve az IADPSG kritérium magyar populáción való alkalmazásával. A KZS szérumban DPP4 aktivitásban leírt különbségek szignifikánsak maradtak, amikor a módosított 99' WHO (GDM: n=77, átlag LnDPP4=3,29 (95% CI: 3,22-3,36), kontroll: n=171, átlag LnDPP4=3,39 (95% CI: 3,35-3,44, p=0,0048) és az IADPSG (GDM: n=71, átlag LnDPP4=3,27 (95% CI: 3,20-3,34), kontroll: n=177, átlag LnDPP4=3,4 (95% CI: 3,35-3,44), Kruskal-Wallis, Newman-Keuls post hoc, p=0,0019) diagnosztikus kritériumrendszerek szerint a betegeket újraklasszifikálva számoltuk ki az eredményeket. Az eltérő diagnosztikai kritériumoknak nem volt szignifikáns jelentőségük az eredmények szempontjából. [173]

#### **4.1.3. Köldökzsinórvér GLP-1 plazma szintek**

Az aktív GLP-1 KZS plazma szintek az alsó mérési határ (2 pmol/L) közelében voltak, szignifikáns mértékben nem tértek el a két csoportban (GDM: n=40, átlag = 3,61 pM (95% CI: 2,96-4,28 pM, kontroll, n=72, átlag=3,43 pM, 95% CI: 3,04-3,82 pM, MWU test, p=0,6).

Az anyai DPP4, aktív GLP-1 meghatározása nem volt lehetséges, mert az OGTT terheléshez vett vérvétel legtöbbször nem csak a vizsgálati centrumokban történt.

## II. *MTNR1B* rs10830963 maternalis genotipizálás eredményei

### 4.2.1. Genetikai vizsgálatba bevont terhesek jellemzői

#### 4.2.1.1. Éhomi és 120. perces vércukorérték

A 24-28. terhességi héten mért OGTT értékek a magyar (HUN) populációban eltérést mutattak a kontroll (n=408) és GDM (n=195) csoportban: 0' plazma glükóz (PG) 4,52 mmol/L vs. 4,96 mmol/L, (GDM és kontroll csoport közötti különbség 95% CI: 0,34-0,54,  $p < 10^{-4}$ ), 120' PG 5,45 mmol/L vs. 8,72 mmol/L (GDM és kontroll csoport közötti különbség 95% CI: 3,06-3,47,  $p < 10^{-4}$ ).

A 24-28. terhességi héten mért OGTT értékek az osztrák (AT) terhespopulációban szintén eltérést mutattak a kontroll (n=183) és GDM (n=147) csoportban: 0' plazma glükóz 4,38 mmol/L vs. 5,14 mmol/L, (GDM és kontroll csoport közötti különbség 95% CI: 0,63-0,87,  $p < 10^{-4}$ ), 60' PG 6,80 mmol/L vs. 9,68 mmol/L (GDM és kontroll csoport közötti különbség 95% CI: 2,47-3,28,  $p < 10^{-4}$ ), 120' PG 5,42 mmol/L vs. 7,38 mmol/L (GDM és kontroll csoport közötti különbség 95% CI: 1,61-2,30,  $p < 10^{-4}$ ).

A két ország 75g OGTT értékeinek összehasonlításakor az alábbi eltérések voltak megfigyelhetők:

- kontroll csoportban valószínűsíthetően a diagnosztikai kitériumrendszerek közötti különbségek következtében a 0' PG érték (HUN>AT, 4,52 mmol/L vs. 4,38 mmol/L,  $p < 0,05$ ) és a terhesség alatti súlygyarapodás (HUN>AT 13,80 kg vs. 9,47 kg,  $p < 0,05$ ) mutatott szignifikáns eltérést a két ország résztvevőit összehasonlítva
- GDM csoportban a 0' PG (AT>HUN 5,14 mmol/L vs. 4,96 mmol/L,  $p < 0,05$ ) és a 120' PG (HUN>AT 8,72 mmol/L vs. 7,38 mmol/L,  $p < 0,05$ ) értékek, valamint az anyai életkor (HUN>AT 33,7 év vs. 32,04 év,  $p < 0,05$ ) szempontjából találtak szignifikáns eltérést a magyar és osztrák vizsgálati populációk között.

#### **4.2.1.2. BMI**

Az OGTT plazma glükózértékekben talált szignifikáns eltérések mellett a terhesség előtti BMI (HUN: n=195/408, GDM 26,78 kg/m<sup>2</sup> vs. kontroll 23,32 kg/m<sup>2</sup>, GDM és kontroll csoport közötti különbség 95% CI: 2,55-4,36, AT: n=147/183, GDM 28,31 kg/m<sup>2</sup> vs. kontroll 23,40 kg/m<sup>2</sup>, GDM és kontroll csoport közötti különbség 95% CI: 2,72-7,09, p<10<sup>-4</sup>) a várakozásnak és korábbi irodalmi adatoknak megfelelően jelentős eltéréseket mutatott a GDM és kontroll populációban mindkét országban.

#### **4.2.1.3. Átlagéletkor**

Szignifikáns eltéréseket találtunk a GDM és kontroll populációban mindkét országban az anyai életkor szempontjából is (HUN: GDM 33,7 év vs. kontroll 31,25 év, GDM és kontroll csoport közötti különbség 95% CI: 1,54-3,36, AT: GDM 32,04 év vs. kontroll 30,51 év, GDM és kontroll csoport közötti különbség 95% CI: 0,08-2,97, p<0,05).

#### **4.2.1.4. HbA<sub>1c</sub>**

Általánosságban megjegyezhető, hogy a HbA<sub>1c</sub> értékekből levonható következtetések limitáltak: részben a terhesség során megváltozó vörösvértest turnover miatt, részben pedig azért, mert a magyar betegeknek csak 53,1%-ban, az osztrák betegek 63,2%-ban történt HbA<sub>1c</sub> szint meghatározás. A HbA<sub>1c</sub> átlag értéke a magyar populációban 5,20 % (33 mmol/mol), (95% CI: 5,10-5,30 (32-34)), az osztrák populációban pedig 5,30 % (34 mmol/mol), (95% CI: 5,21-5,38 (33-35)).

#### 4.2.2. *MTNR1B* rs10830963 maternalis genotipizálás eredményei

##### 4.2.2.1. *Az MTNR1B rs10830963/G kockázati allél asszociációja a GDM kialakulásával (mint bináris jelleggel) a nemzetközi eset-kontroll vizsgálatban*

A genetikai asszociációs vizsgálatot több szempont alapján is elvégeztük. Egyfelől a nagyobb nemzetközi vizsgálat keretében lehetőségünk volt mind a 77 SNP esetében a domináns és az additív genetikai modellek szerinti asszociációs vizsgálat elvégzésére a GDM kialakulásával összefüggésben. A Hardy–Weinberg-ekvilíbrioiumtól (HWE) való deviációt Khi négyzet próbával vizsgáltuk. Szignifikáns deviációt a mért és várt MAF-tól nem mutattunk ki (5. táblázat).

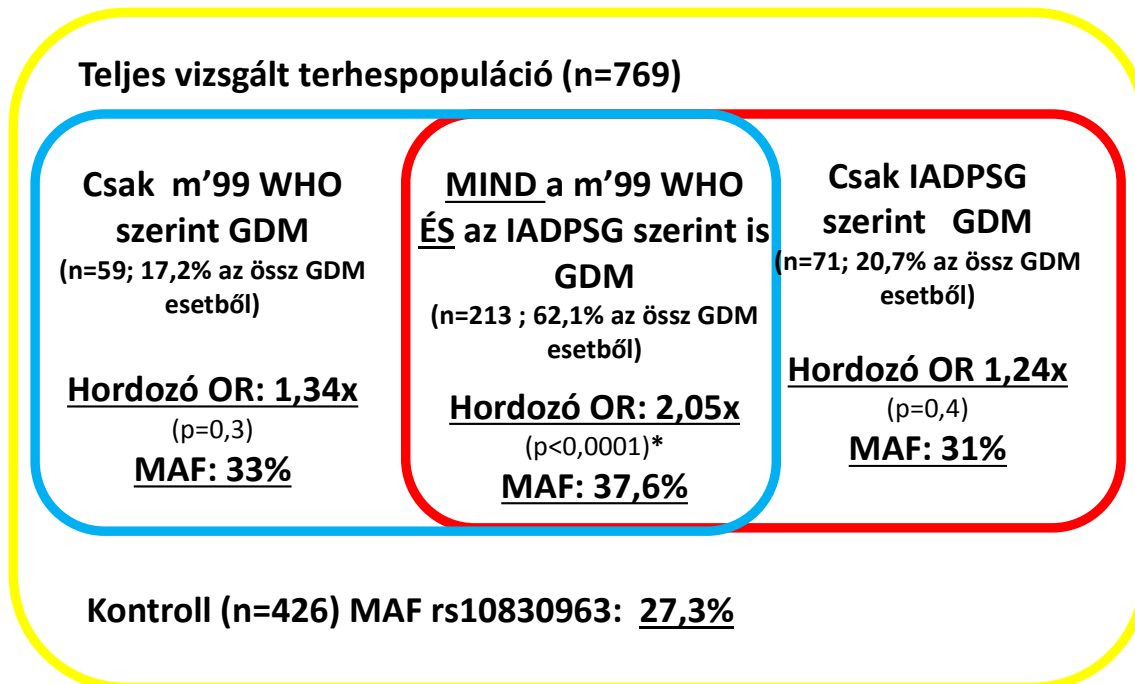
5. táblázat: Khi négyzet próba eredménye a HWE-től való deviáció megállapítására: az *MTNR1B* rs10830963 genotípus megoszlása nem deviál a HWE-től a vizsgálati populációban [172]

SNP azonosító	Gén neve (HGNC rövidítés)	Mért MAF			Várt MAF	Khi négyzet próba (0=nem deviáns, 1=deviáns)
		BB (major allélra homozi góta)	Bb (heterozi góta)	Bb (minor allélra homozigóta)		
rs10830963	<i>MTNR1B</i>	0,50	0,39	0,11	0,48	0

Továbbá – tekintettel a két országban használt különböző diagnosztikai kritériumrendszerekre – az asszociációs vizsgálatokat a betegek újraklasszifikálását követően mindkét diagnosztikai rendszer szerint elvégeztük. Továbbá, az eredeti közleményben, az anyai életkor, valamint az életkor és egyidejűleg terhesség előtti BMI szerint korrigált asszociációs eredmények is fel vannak tüntetve mind a 77 SNP vonatkozásában. A jelen keretek között összességében a GDM kialakulásával

legrobosztusabb összefüggést mutató *MTNR1B* rs10830963 génvariáns *G* kockázati alléljára vonatkozó eredmények magyar nyelvű bemutatására kaptam lehetőséget.

Az *MTNR1B* rs10830963 génvariáns („*G*”) minor allél frekvenciája (MAF) magasabb volt a GDM csoportban, mint a kontroll csoportban mindkét diagnosztikai kritériumrendszer alkalmazása esetén (IADPSG: 36% vs. 28%, m99’WHO: 36% vs. 28%; GDM vs. kontroll) (7. ábra).



\* OR-kat a domináns modell szerint számoltunk, és ebben a számításban kontroll csoport alatt azokat a várandós nőket értjük, akik egyik kritériumrendszer szerint sem GDM-esek. Az OR-kat azon páciensekre számítottuk ki, akik mindkét rendszer szerint megfeleltek a GDM kritériumának.

7. ábra: Az *MTNR1B* gén rs10830963 oki variánsának (kockázati *G* allél) minor allél frekvenciái és esélyhányadosai a beteg és a kontroll populációban – a nemzetközi vizsgálatban alkalmazott két különböző kritériumrendszer (IADPSG, módosított 99’ WHO) szerint [172]

Az *MTNR1B* rs10830963 genotípus a betegség kialakulására vonatkozó hatásának pontosabb jellemzéséhez a genetikai hatás nagyságát tükröző esélyhányados (OR) értékek a két diagnosztikai kritériumrendszer szerinti reklasszifikációt követően, anyai

életkorral, valamint a korrall és egyidejűleg BMI-vel korrigálva ennek megfelelően az alábbiak szerint alakultak (6. táblázat).

6. táblázat: Az *MTNR1B* rs10830963 genotípus esélyhányados (OR) értékei a két diagnosztikai kritériumrendszer szerinti reklaszifikációt követően

<b>OGTT diagnosztikai kritériumrendszer</b>	<b>OR</b>	<b>p</b>	<b>Genetikai modell</b>	<b>Korrekción</b>
<b>m 99' WHO</b>	1,67	$3 \times 10^{-3*}$	D	anyai életkor
<b>IADPSG</b>	1,80	$3 \times 10^{-3*}$	D	anyai életkor
<b>m 99' WHO</b>	1,41	$5 \times 10^{-3}$	A	anyai életkor
<b>IADPSG</b>	1,47	$2 \times 10^{-3}$	A	anyai életkor
<b>m 99' WHO</b>	1,64	$6 \times 10^{-3*#}$	D	anyai életkor és pregesztációs BMI
<b>IADPSG</b>	1,85	$7 \times 10^{-4*+}$	D	anyai életkor és pregesztációs BMI
<b>m 99' WHO</b>	1,39	0,012	A	anyai életkor és pregesztációs BMI
<b>IADPSG</b>	1,48	$3 \times 10^{-3}$	A	anyai életkor és pregesztációs BMI

\* Az asszociáció szignifikáns maradt Benjamin-Hochberg p-korrekción követően is ( $p < 0,05$ ). + Statisztikai erő = 90%, # Statisztikai erő = 73%. D=domináns genetikai modell, A=additív genetikai modell

Az eredményekben megfigyelhetőek a következők:

Az *MTNR1B* rs10830963 genotípus és a GDM kialakulásának összefüggése tekintetében nagyobb a genetikai hatásnagyság a domináns modell szerint, mint az additív modell szerint mind az anyai életkorhoz, mind az életkor és egyidejű terhesség előtti BMI-hez való igazítást követően is. Habár ilyen mélységű elemzés a téziseim tárgyát nem képezi, összességében is megfigyelhető, hogy a GDM kialakulására a vizsgált 77 egyponos génvariáns közül az *MTNR1B* genotípusnak van a

legrobosztusabb hatása (azaz a genetikai hatás nagysága a legnagyobb), továbbá az eredmények Benjamini-Hochberg p-korrektíós eljárást követően is szignifikánsak maradnak és a statisztikai erő is megfelelő.

***4.2.2.2. Az MTNR1B rs10830963/G kockázati allél asszociációja a standard időpontban végzett 75g OGTT plazma glükóz értékekkel terhesekben***

Az alábbiakban részletezett összefüggések és az ezzel kapcsolatosan leírt genetikai hatások az egész terhespopulációra vonatkozó érvényűek, ugyanis a 24-28. terhességi héten mind Magyarországon, mind Ausztriában minden várandós személyben történik 75g-os OGTT. Az *MTNR1B* rs10830963 *G* kockázati allél hordozásnak volt a legnagyobb hatása a vizsgált 77 SNP közül az éhomi PG értékekre (átlagos hatáserősség *G* kockázati allél (GG és GC) hordozás esetén a *CC* genotípussal rendelkezőkhöz képest: 0,21 mmol/L (95% CI: 0,11-0,3 mmol/L) emelkedés a plazma glükózsztintre,  $p < 5 \times 10^{-4}$ ). A 120 perces PG értékekre is az *MTNR1B* rs10830963 *G* kockázati allél hordozása volt a legnagyobb hatással a vizsgált 77 SNP közül (átlagos hatáserősség *G* kockázati allél hordozókban 0,61 mmol/L (95% CI: 0,3-0,89 mmol/L) emelkedés a plazma glükózsztintre,  $p < 5 \times 10^{-4}$ ).



## 5. Megbeszélés

### I. **Köldökzsínórvér szérum DPP4 enzimaktivitás és aktív GLP-1<sup>7-36</sup> plazma meghatározása GDM és nem diabeteses újszülöttekben**

Tudomásunk szerint vizsgálatunkban először határoztuk meg a szérum DPP4 aktivitást és plazma aktív GLP-1<sup>7-36</sup> hormonszinteket GDM-mel szövődött és nem diabeteses anyák újszülöttjeinek köldökzsínórvéréből. Beszámoltunk arról, hogy a szolubilis DPP4 enzim aktivitása szignifikánsan alacsonyabb a GDM csoport köldökzsínórvérében a kontroll csoporthoz képest.

A szénhidrátanyagcsere zavara és a szérum DPP4 aktivitás közötti összefüggés felnőttekben régebb óta ismert. A SE II. sz. Belgyógyászati Klinika Anyagcsere és diabetes munkacsoportjának korábban végzett vizsgálata alapján Firneisz és mtsai már 2010-ben arra a következtetésre jutottak, hogy a leggyakoribb szénhidrátanyagcsere zavarhoz, a 2-es típusú cukorbetegséghez társuló, korábban más szerzők által sugallt sDPP4 enzimaktivitás növekedés magyarázata az, hogy az inzulinrezisztens, obez betegek csoportjában akkor magasabb a szérum DPP4 aktivitás, ha a betegeknek egyidejűleg klinikailag észlelhető NAFLD-jük is van [144], de az aktivitás nem volt magasabb abban az esetben, ha a T2DM betegek közül (a klinikai megjelenéshez képest „arteficiálisan”) az obez, inzulinrezisztens NAFLD betegeket kizárják. Ennek a vizsgálatnak az eredményeit még egy Fadini és mtsai. által közölt összefoglaló közlemény is a legnagyobb mintaelemszámmal végzett vizsgálatként idézi sDPP4 és T2DM vonatkozásában és a fenti konklúziót az összegzésben is kiemeli. Ezt kiegészíthetjük azzal, hogy amennyiben a vizsgálók az NAFLD-re nincsenek tekintettel, akkor összességében NAFLD szempontból „differenciálatlan” T2DM betegekben a DPP4 aktivitás növekedéséről számolnak be a kontroll csoporthoz viszonyítva, amelynek mértéke a metforminkezelés következtében csökken. [174-177]

A köldökzsínórvérből mért szérum DPP4 vizsgálatok kezdő magyarázatául az szolgál, hogy Brumbaugh és mtsai. 1-3 hetes újszülöttekben szenzitív, 1H<sup>+</sup>-MRS módszerrel intrahepaticus lipidtartalom növekedést figyeltek meg magasabb terhesség előtti BMI-vel rendelkező édesanyák újszülöttjeiben. [178]

Kezdeti várakozásainkkal szemben azt tapasztaltuk, hogy a GDM-es édesanyák újszülöttjeinek köldökzsinórvéréből mért sDPP4 aktivitás szignifikánsan alacsonyabb, mint a nem cukorbeteg várandósok újszülöttjeinek köldökzsinórvéréből mért sDPP4 aktivitás. A sDPP4 aktivitásban kimutatott különbség statisztikai ereje meghaladta a 80%-ot, ezért klinikai léptékkal is elfogadható eltérésnek tartjuk. Szóbeli közlés szerint (Firneisz) egy korábbi előzetes vizsgálat szerint, amennyiben májbetegség klinikailag nem áll fenn, a GDM-es édesanyák szérumában standard OGTT időpontjában levett vérmintákból meghatározott DPP4 szérum aktivitás nem tér el szignifikánsan a GDM és nem diabeteses csoportok között (nem publikált eredmények).

A különböző diagnosztikai kritériumok hatásának vizsgálata céljából, a GDM és kontroll csoportokban a KZS szérum DPP4 aktivitásában talált eltéréseket újraszámoltuk a módosított 1999-es WHO kritérium osztrák csoportban, illetve az IADPSG kritérium magyar populáción való alkalmazásával. Az újraklasszifikálásra az adott lehetőséget, hogy a GDM mint betegség ebben a populációban 95%-ot meghaladó mértékben, a 24-28. terhességi héten végzett standard 75g OGTT értékek alapján került diagnosztizálásra mindkét országban és a vizsgálatban rögzítettük a terhelés során mért vénás plazma glükóz értékeket is. Az egyetlen korlátozó tényező ezzel kapcsolatban, amit nem tudtunk elkerülni, hogy a magyar OGTT vizsgálatban nincsen 1 órás vérvételi időpont, ami az osztrák ajánlásban már 2011-ben szerepelt, így erre vonatkozóan azokat a betegeket nem tudtuk azonosítani a reklasszifikálás során, akik Magyarországon kizárólag a 60 perces értékek alapján kerültek volna diagnosztizálásra.

Ugyanakkor az osztrák betegpopuláció adatai alapján a kizárólag 60 perces érték alapján diagnosztizált betegek aránya 15% alatti volt, úgy ennek a hibafaktornak a megléte mellett is indikatívnak tartjuk a szérum DPP4 enzimaktivitásra vonatkozó újraklasszifikációt követően született eredményeket, amelyek hasonlóan szignifikáns csökkenést jeleztek mind az IADPSG, mind a módosított 1999-es WHO kritériumrendszer alapján történt újracsoportosítást követően.

A DPP4 enzimaktivitás tekintetében vizsgáltuk az összefüggést az anyai életkorral és BMI-vel, közvetlen korrelációt egyik esetben sem tapasztaltunk, így ezek alapján az eredmények jelentős befolyásolásának lehetősége nem valószínűsíthető. Ugyanakkor ennek jelentőségét egy nagyobb esetszámú vizsgálatban teljesen elvetni jelenleg nem tudjuk.

A vércukorszinttel mért összefüggések tekintetében az erre való adjusztálást nem tudjuk megtenni, mert a diagnózis felállításában van szerepe a vércukor értékeknek (a diagnózis 95%-ban ezen alapszik), így a beteg vs. nem beteg elkülönítést követően a vércukorra való korrigálás nehezen értelmezhető a terheléses értékekre nézve. A többi érték (vércukornapló átlag értékei) pedig nem olyan pontosságú, hogy erre való korrekcióra lehetőséget adna (egyéb glykaemiás kontrollra utaló paraméterekkel való összevetés, pl. fruktózamin, HbA<sub>1c</sub> nem került olyan arányban vizsgálatra vagy interpretációja nem standardizált klinikailag, hogy ez vizsgálható legyen).

Hasonló vizsgálatok az irodalomban csak igen csekély számban lelhetőek fel, kínai szerzők munkájában közölnek hasonló adatokat a publikációnk megjelenését követő 2 évvel. Liu és mtsai. kisebb mintaelemszámmal végzett munkájukban pozitív korrelációt igazoltak az anyai szérumban és a köldökzsinór szérumban DPP4 koncentrációi között. Nem találtak szignifikáns eltérést a köldökzsinórvér DPP4 koncentrációiban a nem diabeteses és GDM csoportok összehasonlítása során, azonban vizsgáltunkhoz hasonló hatásnagyságú, kb. 7%-os csökkenést figyeltek meg a KZS-vér sDPP4 koncentrációban GDM esetén (a mi vizsgálatunkban 11%-os sDPP4 enzimaktivitás csökkenést írtunk le a GDM csoportból származó KZS-vér mintákban a kontrollokhoz képest). [179]

A két közleményben megfigyelt a KZS-vérben a szolubilis DPP4 enzimaktivitás/koncentráció csökkenésének magyarázata GDM terhességben nem tisztázott. Lehetséges, hogy neonatalisan más szabályozórendszerek működése következtében alakulnak ki („neonatalis válasz az anyai hyperglykaemiára”?) az eltérések, azonban az ilyen jellegű humán vizsgálatok elvégzése azonban rendkívül nehéz. A patomechanizmus pontosabb tisztázása ezért az általunk ismert közlemények és saját új megfigyeléseink alapján sem végezhető el, ehhez csak további humán és experimentális vizsgálatok adhatnának támpontot.

Ugyanakkor ki kell emelni, hogy a magzati és a neonatalis életkorból nagyon kevés adat áll rendelkezésre a kérdés megválaszolását illetően, így nem ismertek azok a feltételezett mechanizmusok, amelyek egy ilyen szabályozásban részt vehetnének, de szóba jönnek epigenetikai változások vagy a magzati életben létrejövő „reprogramming” változások is. A pontos válaszhoz ilyen szempontból célzott vizsgálatokra lenne szükség, amelyet humán vonatkozásban további megvalósíthatósági szempontok is korlátoznak. A fentebb ismertetett GDM-es terhességből született

egyénekben végzett vizsgálat alapján arra lehet biztonsággal következtetni, hogy a kínai szerzők [179] az általunk leírt változásokat egy kisebb esetszámú vizsgálatban nem szignifikáns trendként észlelték, amit lehet a KZS-vér sDPP4 aktivitás csökkenésre vonatkozó megfigyelésünket megerősítő adatként értelmezni GDM-ben. Ugyanakkor a kínai vizsgálat eredményét [179] alacsony esetszámok miatt az eredeti megfigyelésünk egyértelmű reprodukálásaként egyelőre még nem lehet értelmezni, így az eredeti megfigyeléseink nagyobb esetszámmal történő reprodukálása kívánatos lenne.

A különböző kezelési csoportokban megfigyelt változások többféle magyarázata is elképzelhető. A legvalószínűbbnek az tűnik, hogy a klinikai gyakorlatban azok a betegek kerülnek inzulinkezelésre, akikben a betegség „súlyosabb” megnyilvánulási formája észlelhető, azaz általában két hetes diétás és életmódkezelést követően nem érik el a meghatározott glykaemiás célértékeket. Ebben az értelemben akár az is feltételezhető, hogy az inzulinkezelés egyfajta jelzője lehet az összességében magasabb vércukorértékeknek, és ez is szólhat az előző hipotézis bizonyítékául, különös tekintettel arra, hogy a terápiásan adott exogén inzulin általában nem jut át a placentán, így direkt gyógyszerhatás következményével kevésbé számolhatunk. A leírt eltérések elméletben lehetnek akár a GDM-mel és azt jellemző hyperglykaemiával összefüggő, más metabolikus változások következményei is.

A sDPP4 vizsgálatokkal egyidejűleg, de ahhoz képest kisebb mintaelemszámmal végeztünk aktív GLP-1<sup>7-36</sup> plazmakoncentráció meghatározást köldökzsinórvérből. Az ehhez kapcsolódó feltételezés abból származott, hogy az inkretin hormonokat, így a GLP-1-et és a GIP-et a DPP4 enzim hasítja, és a hasítás következtében a béta-sejtek funkciójára, valamint az inzulinszekrécióra gyakorolt hatásuk is megszűnik.

Továbbá a gesztációs diabeteses nőkben, egyes közlemények szerint, az inzulinszekréció károsodásáért a GLP-1 és GIP szintek csökkenése lehet felelős. Ezt a feltételezést erősíti meg Lencioni és mtsainak vizsgálata, amelyben szignifikánsan alacsonyabb plazma GLP-1 szekrécióról számolnak be az OGTT 180-ik percében GDM-ben a kontroll terhesekhez viszonyítva, és ez az eltérés posztpartum is megmarad. [168] Egy másik vizsgálat az éhomi GLP-1 koncentrációban írt le magasabb értéket a GDM csoportban, azonban a GLP-1 válaszban ők nem találtak szignifikáns eltérést a GDM és nem diabeteses csoport között. [169] Ugyanakkor a neonatalis GLP-1 szinteket tudomásunk szerint közleményünket megelőzően nem vizsgálták. Saját vizsgálatunkban

az aktív GLP-1<sup>7-36</sup> köldökzsínórvér plazma szintek az alsó mérési határ közelében voltak, azonban szignifikáns mértékben nem tértek el a GDM és a kontroll csoportban. Ebből arra következtethetünk, hogy a GLP-1 és az inkretin szabályzórendszer csak minimálisan aktív (egyfajta "baseline" szekréció lehetséges, de a rendszer működése a későbbiekben, az orális táplálkozás megkezdésekor válhat fiziológiai értelemben aktívvá, azonban ez az elképzelés jelenleg spekulatív, tekintettel arra, hogy az inkretin rendszer működésének pontos változásairól („aktiválódásáról”) újszülöttkorban nincsenek közölt irodalmi adatok). Az inkretin rendszer - az alacsonyabb hormonszintek alapján - funkcionálisan valószínűsíthetően nem teljesen aktív az orális táplálás megkezdése előtt, de az erre vonatkozó további adatok a születést követően limitáltak. A felnőttkorban cukorbetegségben végzett inkretinválasz vizsgálatok jó részében inkább GLP-1 mint GIP válasz meghatározása történik (vagy GLP-1 és GIP), ugyanis amennyiben a felnőtt életben (nem terhésekben) egy kórképben a GLP-1 válasz károsodott, úgy lehetőség van annak a betegségnek közvetlen GLP-1 analóg receptor agonista alapú kezelésére is.

Összességében arra gondolhatunk, hogy - habár a köldökzsínórvér sDPP4 aktivitás csökkenésének oka nem ismert GDM terhességben - klinikai következményei azonban mégis lehetnek: egyfelől nem kizárható, hogy a csökkent sDPP4 aktivitás valamilyen módon mégis hozzájárulhat a GDM-es terhességből születettekben gyakorta megfigyelhető hypoglykaemia kialakulásában, habár ezt a feltételezést inkretinfüggő módon a jelenlegi méréseink alapján valószínűsíteni nem lehet. Ugyanakkor, ebben a vonatkozásban is, esetleg a későbbiekben érdekes megfigyelés lehet, hogy a szolubilis DPP4 inkretinfüggetlen módon is képes inzulinrezisztenciát előidézni a máj és zsírszövetekben, legalábbis felnőttekből származó humán sejtekben. Ezek azonban mind spekulatív jellegű lehetséges vélemények a lehetséges következményekről, amelyeket a jelen eredmények birtokában nem lehet kimondani, ugyanakkor elméletben ez nem kizárható.

További klinikailag jelentős következménye lehet a csökkent köldökzsínórvér sDPP4 aktivitásának az, hogy a DPP4 CXCL-12 bontása is csökkenhet, és az így feltételezhetően magasabb CXCL-12 szintek a CXCR4-receptoron keresztül az őssejtmobilizáció megváltozását is eredményezhetik. [180, 181] Ezzel összefüggésben értelmezhető munkacsoportunk egy további, ugyanebben a nemzetközi

keretrendszerben végzett vizsgálata, amelyben a haematopoietikus ő- és progenitor sejtek arányát határoztuk meg köldökzsinórvér mintában. A vizsgálat eredményeként megfigyeltük, hogy a köldökzsinórvér HSPC sejtek aránya GDM-ben magasabb, inzulinkezelés esetén pedig különösen magas. Habár a megfigyelés fenti magyarázata csak egy lehetséges patofiziológiai útvonal, a klinikai jelentősége nagy, mivel ismert, hogy a GDM terhesség komplikációja a neonatalis polycythaemia és az ehhez társuló tromboemboliás események megjelenése, aminek kialakulásában a megváltozott haematopoietikus ő- és progenitorsejt aránya is szerepelhet. [120] [181]

## II. *MTNR1B* rs10830963 variánsának maternalis vizsgálata

Korábbi vizsgálatok egyértelműen megerősítették azt a feltételezést, hogy a GDM kialakulásában genetikai tényezők is fontos szerepet játszanak. [77, 91, 182] Családi anamnézisben előforduló diabetes 8,5-szörös kockázatemelkedést jelent GDM vonatkozásában. [80] Több konkrét genetikai tényezők szerepét azonosító nagyobb genetikai vizsgálat is történt GDM-ben. Ezek közül a poligénes genetikai hajlammal rendelkező gyakori betegségekben alapvetőnek számító kandidáns génasszociációs vizsgálatok és a genom széles asszociációs vizsgálatok (Genome Wide Association Study, GWAS) eredményeinek metaanalízise azonosított bizonyos génvariánsokat és azzal kapcsolatban kandidáns géneket, amelyek GDM kialakulásával hozhatóak összefüggésbe. [77, 96]

Egy újabb metaanalízis szerint a GDM-mel összefüggésbe hozott 6 lókuszon található kandidáns gének különböző hatásmechanizmusok útján befolyásolják a betegség kialakulására való hajlamot. Eszerint az inzulinválaszban (*MTNR1B*, *TCF7L2*), az inzulinrezisztencia kialakulásában (*IRS1*, *PPARG*), az inzulin, az inzulinszerű növekedési faktorok és a glükóz homeosztázisának szabályozásában (*IGF2BP2*), valamint a gyulladásos mechanizmusok regulációjában (*TNF $\alpha$* ) [87-90] következhetnek be genetikai asszociációt mutató kórtani változások. Ezek közül téziseim kiegészítéseként a nagyobb nemzetközi vizsgálatban 77 SNP-vel végzett asszociációs vizsgálat eredményei közül az *MTNR1B* rs10830963 genotípusra vonatkozó eredményeket ismertetem.

Az *MTNR1B* egyes génvariánsairól ismert, hogy összefüggésben állnak a károsodott korai inzulinválasszal (30 perces vércukorérték) és a béta-sejtek csökkent glükózérzékenységgel, emiatt a rs10830963/*G* allélt hordozókban magasabb vércukorszintek mérhetőek. [83, 95] Továbbá kiemelhető, hogy az *MTNR1B* rs10830963 korábban a következő metabolikus jellegekkel/betegséggel mutatott asszociációt: 2-es típusú diabetes, éhomi vércukorszint, glükózhomeosztázis. [83, 92, 96, 183-185]

A funkcióját tekintve fontos megállapítani, hogy az *MTNR1B* rs10830963 variánsának kockázati *G* allélja a major *C* alléllal ellentétben egy felismerési mintázatot képez, amely in vitro végzett kutatások alapján kötődni tud a NEUROD1 és más transzkripció faktorok konszenzus szekvenciáihoz. [99] Az inzulin szekrécióját génexpressziós szinten béta-sejt specifikus transzkripció faktorok szabályozzák, mint a Pdx-1, a MafA és a NEUROD1. [186] Ez a kötődés valószínűleg összefüggésben állhat a kockázati *G* allél által az *MTNR1B* expressziójának növelésével, illetve a FOXA2-kötött felerősítő (enhancer) aktivitás emelkedésével a béta-sejtekben. Más szerzők szerint nem teljesen tisztázott a mechanizmus, amelyen keresztül az *MTNR1B* rs10830963 *G* allél károsítja az inzulinszekréciót, és közvetlen béta-sejt hatás helyett inkább egy központi idegrendszeri hatás másodlagos következményeként értelmezik, ami a központi melatonin funkció circadian ritmusra gyakorolt szabályozó hatásának a károsodása. [187]

Az *MTNR1B* rs10830963 szerepére vonatkozóan GDM-ben is rendelkezésre áll több, jelentős vizsgálat: egy nagy kiterjedésű, 2 millió egyponos génvariánsal végzett koreai GWAS vizsgálat az *MTNR1B* rs10830963 variánst kockázati polimorfizmusként azonosította GDM kialakulása szempontjából. [96]

A GDM-hez asszociált génvariánsok azonosítása céljából a közelmúltban 28 vizsgálat metaanalízisét végezték el, ennek során az *MTNR1B* rs10830963 kockázati *G* alléljának GDM kialakulásával való összefüggését mutatták ki a következők szerint:

7 tanulmány vizsgálta az rs10830963 génvariáns szerepét GDM-ben, amelyek metaanalízise azt mutatta, hogy a *G* allél szignifikánsan asszociált a GDM magasabb kockázatával (poolozott OR=1,31). Szigorúbb kritériumok szerint 2 vizsgálatot a HWE-től való szignifikáns eltérés miatt ki kellett zárni a metaanalízisből, mindazonáltal, az eredmények még így is szignifikáns asszociációt mutattak (pooled OR=1,26). Az

eredmények azonban csak azokban a vizsgálatokban voltak szignifikánsak, amelyekben a betegek terhesség előtti átlagos BMI értéke  $25 \text{ kg/m}^2$  feletti, de azokban nem, amikor az átlag BMI  $25 \text{ kg/m}^2$  alatti volt. [78] Ezek az eredmények nagyfokban összhangban vannak a vizsgálatnak az eredményével, amelybe lehetőségem volt bekapcsolódni.

Tekintettel arra, hogy a mi EFSD vizsgálatunkban mind az osztrák, mind a magyar GDM betegcsoportok átlagos BMI értéke meghaladta a  $25 \text{ kg/m}^2$ , eredményeink egyezők a nemzetközi irodalmi eredményekkel. Azonban ki kell emelni, hogy a jelenlegi vizsgálatunkat megelőzően összességében egyetlen egy olyan tanulmány igazolja az *MTNR1B* génvariáns szerepét, ami európai származású betegekben történik, és teljesíti a szigorúbb kizárásra vonatkozó kritériumokat. [184] A másik 4 vizsgálat már ázsiai eredményeket tükröz. Ebből a szempontból fontosnak tartjuk, hogy az általunk végzett vizsgálat az osztrák-magyar populációban elsőként, kaukázusi betegcsoportban pedig a második olyan vizsgálat, amely egyértelműen az *MTNR1B* rs10830963 variáns szerepét igazolja GDM kialakulásában. Ugyanakkor, Vejrazkova és mtsai vizsgálatában a GDM csoporton belül nem találtak asszociációt az *MTNR1B* rs10830963 éhomi és a 75 g-os OGTT terhelést követően mért PG értékekkel [184], a mi vizsgálatunkban a teljes vizsgálati populációra vonatkoztatva (GDM és kontroll együtt, a PG értékek folyamatos változók) a *G* allél hordozókban mind az éhomi, mind a terheléses 120 perces PG értékeiben szignifikáns emelkedést tudunk kimutatni.

Továbbá kiemeljük azt, hogy nemzetközi összehasonlításban az *MTNR1B* rs10830963 variáns minor allél frekvenciájára vonatkozó adataink is jó összhangban vannak a 1000 Genomes program keretében végzett vizsgálat európai populációra vonatkoztatott minor allél frekvencia (MAF) eredményeivel, ugyanis, ha egy populációs átlagot becslünk, akkor az hazánkban is 29%-nak adódik (a becslés 10%-os GDM előfordulási gyakorisággal számol, amelyben a GDM-sekben a MAF 36%, nem diabeteses populációban pedig 28%), ami teljes egyezés az európai átlagos MAF-al (29%). Az eredmények ilyenfokú egyezése arra utal, hogy a vizsgálatunk felépítése és technikai kivitelezése is megfelelő volt. [83, 172]

Az *MTNR1B* rs10830963 génvariáns különböző kritériumrendszerek szerint megállapított esélyhányadosa 1,6-1,9 közötti (IADPSG esetén OR: 1,84; módosított 99' WHO kritériumrendszer esetén OR: 1,64), ez nagyobb, mint a poligénes hajlammal rendelkező betegségekben típusosan jellemző (OR <1,5) érték a T2DM GWAS



vizsgálatokra vonatkozóan. [84] Tekintettel arra, hogy a nemzetközi vizsgálatban két különböző GDM diagnosztikai kritériumrendszer volt érvényben 2012 és 2015 között, külön elemeztük, hogy a két különböző diagnosztikai kritériumrendszer szerint felállított GDM diagnózis esetén milyen esélyhányadosok jellemzik az *MTNR1B* kockázati génvariáns és a betegség közötti asszociációt.

A legnagyobb genetikai hatásmagyság ( $OR > 2$ ) a mindkét GDM kritériumrendszert (IADPSG és módosított 99' WHO) egyaránt teljesítő betegcsoporthoz volt társítható.

Egy újabb metaanalízis szerint a GDM-ben az *MTNR1B* rs10830963 *G* allél hordozás szerepét 7 vizsgálat alapján 1,31-es "poolozott" OR értékkel lehet jellemezni, ami 1,28-nak bizonyul, ha a HWE-től deviáló 2 vizsgálatot kiveszik az elemzésből. Szerepe van továbbá a szerzők származásnak (ázsiai populáció poolozott OR: 1,23, kaukázusi populáció: 1,49). [78] Ehhez képest a mi vizsgálatunkban magasabb OR értékeket kapunk. A jelenség magyarázatául (szerintünk az ázsiai vs. kaukázusi különbség magyarázata is) az szolgálhat, hogy azokban a vizsgálatokban, ahol a BMI átlagértéke  $25 \text{ kg/m}^2$  alatti nem kimutatható a *G* allél hordozásának kockázatonövelő hatása, és a mi vizsgálatunkban pedig a GDM csoportban a BMI átlagértékek ennél magasabbak voltak (Hun:  $26,8$  vs. Aut:  $28,3 \text{ kg/m}^2$ ). Habár a szerzők eddig a következtetésig nem jutottak el a kitűnő összefoglaló cikkükben, szerintünk ez felveti az *MTNR1B* rs10830963 – BMI közötti interakció lehetőségét a GDM kialakulására vonatkozó genetikai hatásmagyság tekintetében.

Az EFSD New Horizons vizsgálat az első olyan vizsgálat, amelyben a terhes személyekben az *MTNR1B* rs10830963 variáns *G* allél által létrejövő GDM kockázatonövekedést két kritériumrendszer szerint is vizsgálták, amelynek eredményeként megállapítottuk, a betegségre való genetikai fogékonyság *G* allél hordozókban mindkét kritériumrendszer szerint teljesül, azonban azokban a betegekben bizonyult legjelentősebbnek a genetikai hatás, akik egyidejűleg mind az IADPSG mind a módosított 99' WHO kritériumok szerint GDM betegnek bizonyultak volna. [172]

Újabb eredmények szerint a kockázati rs10830963 variáns *G* allél hordozásnak nemcsak a betegség kialakulásában, hanem a kezelésre adott válasz meghatározásában is szerepe lehet. Finnországban 2008-2014 között 4 szülészeti kórházban végzett gesztációs diabetes mellitus prevenció randomizált kontroll vizsgálat (randomised controlled gestational diabetes prevention trial, RADIEL) adatainak másodlagos analízise során

történt az *MTNR1B* rs10830963 *G* allél hordozás és a GDM szempontjából magasabb kockázatú személyek prevenció céljával végzett korai intervencióra (diéta+életmódkezelés) adott válasza közötti összefüggés vizsgálata. GDM szempontjából magasabb kockázatúnak tekintették, amennyiben a várandós személy kórelőzményében GDM szerepelt és/vagy  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> terhesség előtti BMI értéke volt. Ezeket a terhes személyeket a 20. terhességi hét előtt (átlag 13. hét) vonták be a vizsgálatba, és két csoportba sorolták őket: intervenció és kontroll csoport. Az intervenció csoport diétára, fizikai aktivitásra és testsúlykontrollra vonatkozó tanácsadásban részesült, a kontroll csoport pedig a rutin antenatalis gondozásban részesült. A szerzők legfőbb eredménye az volt, hogy csak azok a betegek profitáltak a korai intervencióból, akik a rs10830963 génvariáns *G* kockázati allélját nem hordozták, azokban ugyanis az átlagosan 13. héttől a standard OGTT-ig (24-28. terhességi hét) végzett intervenció a GDM kialakulásának kockázatát 1/6-ára csökkentette, azonban a *G* allél hordozása esetén a korai intervenció teljesen ineffektívnek bizonyult. A vizsgálat eredményei alapján az *MTNR1B* rs10830963 génvariáns későbbi intervenció vizsgálatokban kandidánsként jön szóba a GDM precíziós medicinájában.

[188]

A vizsgált régióban (Ausztria-Magyarország) eredményeink alapján az *MTNR1B* rs10830963 *G* allél hordozás a női populáció 49%-ában igazolható, és a génvariáns hordozás hatásának nagysága meghaladja a poligénes génvariánsok típusosan jellemző esélyhányadosát a betegség kialakulására vonatkoztatva. A vizsgálat további folytatásaként, annak post hoc elemzésével olyan eredményekre jutottunk, amelyek azt bizonyítják, hogy a génvariáns hordozásának nem csak a betegség kialakulására, hanem a inzulinterápia bevezetésének kockázatára is hatása van. A 29 kg/m<sup>2</sup> BMI küszöbérték felett az OR >5 antenatalis inzulin kezelés vonatkozásában, ami olyan hatásmagyságot tükröz, aminek már közvetlen gyakorlati terápiás jelentősége is lehet. [189]

Az *MTNR1B* kockázati *G* alléljának hordozása a korai inzulinválasz romlását eredményezi, ezzel összefüggésben kiemelhető, hogy az inzulinszekréció variabilitását monozigóta ikervizsgálatokban 75-84%-ban örökletesnek találták, ami a genetikai tényezők kiemelt jelentőségére utalhat a GDM kialakulásában döntő fontosságú béta-sejt plaszticitás elmaradásában. [40, 83]

Funkcionális szempontból kiemelhető, hogy az *MTNR1B* gén a két nagy affinitású melatonin receptor közül az egyiket hordozza. A géntermék egy G-protein kapcsolt két transzmembrán régiót tartalmazó receptor, amely nagy affinitással kötődik a melatoninhoz, amit elsődlegesen a corpus pineale szekretál.

Az *MTNR1B* receptort több szövetben kimutatták, így retinában, az agyban, amely fénnel összefüggő funkciókra utal, és a melatonin neurobiológiai hatásait közvetítik, ugyanakkor az *MTNR1B* a hasnyálmirigy inzulintermelő béta-sejtjein is jelen van. Az *MTNR1B* kockázati *G* allélját hordozó személyekben a béta-sejtjeiken az *MTNR1B* receptorok upregulációja figyelhető meg, amelynek következtében az inzulinszekréció kifejezettebb gátlása valósul meg. [97]

Ez a kötődés valószínűleg összefüggésben állhat a kockázati *G* allél által az *MTNR1B* mRNS expressziójának növelésével [98], és ezt követően a melatonin jelátvitel növekedéséhez vezet az inhibitoros G-fehérjén keresztül, ami a cAMP rendszeren keresztül csökkenti az inzulinszekréciót.

Az rs10830963 variáns pedig az *MTNR1B* gén intronjában helyezkedik el, ugyanakkor mégis olyan változást hoz létre, ami egy transzkripciós faktor kötőhelyet alakít ki, amelyhez más transzkripciós faktorok mellett a *NEURODI* is képes kötődni. Ennek tulajdonítják a receptor expresszióban mRNS, majd fehérje szinten is megjelenő változásokat is, egyértelműen igazolva ezzel azt, hogy ez a variáns diabetest okozó variáns.

## 6. Következtetések

### I. Köldökszínór DPP4 szérum enzimaktivitás és aktív GLP-1<sup>7-36</sup> plazmaszint vizsgálata

- A sDPP4 enzimnek mérhető aktivitása van a GDM és nem diabeteses terhességből születettek egyének KZS vérében.
- A KZS sDPP4 aktivitása a GDM terhességből született egyéneknél szignifikánsan alacsonyabb (11%-os csökkenés), mint a nem diabeteses terhességből születettekben.
- A köldökszínórvér sDPP4 aktivitásában jelentkező fenti különbségek magyarázata jelenleg nem tisztázott, felmerülhet a terhességi cukorbetegség újszülöttjeinek csökkent adaptív fetális válasza vagy egy korai regulációs zavar lehetősége is a DPP4-inkretin tengelyben.
- A megfigyelt KZS sDPP4 aktivitás csökkenés – elméletileg – hozzájárulhat a GDM egyes neonatalis klinikai szövődményeinek kialakulásához (pl. hypoglykaemia, polycythaemia), azonban erre vonatkozóan az eredmények direkt evidenciaként egyelőre nem interpretálhatóak.
- Az aktív GLP-1<sup>7-36</sup> köldökszínórvér plazma szintek alacsonyak, az alsó mérési határ közelében mérhetőek.
- A jelenlegi (korlátozott) mintaelemszámok mellett szignifikáns eltérés nem volt észlelhető a GDM terhességből született és nem diabeteses terhességből született egyénektől származó mintákban mért aktív GLP-1<sup>7-36</sup> KZS plazma szintek között.
- A GLP-1<sup>7-36</sup> és az inkretin szabályozórendszer (egyfajta "baseline" szekréció lehetséges) – az alacsonyabb hormonszintek alapján – funkcionálisan valószínűsíthetően nem teljesen aktív az orális táplálás megkezdése előtt, de az erre vonatkozó további adatok a születést követően limitáltak.

**II. *MTNR1B* rs10830963 maternalis genotipizálás eredményei**

- Az EFSD New Horizons kutatásban a vizsgált 77 egyponos génvariáns asszociációs vizsgálatok az *MTNR1B* rs10830963/ *G* allélhordozásnak volt a legnagyobb genetikai hatása a magyar és az osztrák terhes személyekben a GDM kialakulásra.
- Az *MTNR1B* rs10830963 *G* allélhordozás GDM kialakulására vonatkoztatott esélyhányados értéke – az alkalmazott diganosztikai kritériumrendszerrel függetlenül - meghaladta (OR 1,6-1,9) a poligénes hajlammal rendelkező betegségekben a gyakori kockázati génvariáns hordozás esetén típusosan jellemző (1,5 alatti OR) kockázatonövekedés mértékét.
- Az *MTNR1B* rs10830963 *G* allél hordozása mind a terhesség 24-28. hete között végzett 75g OGTT során mért éhomi és 2 órás plazma glükóz értékek emelkedését eredményezi, a genetikai hatás nagysága klinikailag is jelentős, a 2 órás érték tekintetében meghaladja a 0,5 mmol/L-es PG különbséget. Az *MTNR1B* rs10830963 *G* kockázati allél frekvenciája Magyarországon is gyakori, egyező a 1000 genomes program keretében mért európai minor allél frekvenciával (MAF, súlyozott magyar populációs átlag: 29%), azaz a magyar nők közel fele (49%) hordozza a *G* kockázati allélt.
- A genetikai hatás nagysága és a az *G* kockázati allél frekvenciája alapján az *MTNR1B* rs10830963 genotípushoz tartozó kockázatonövekedésnek hazánkban is számottevő szerepe lehet a GDM kialakulásában. Az *MTNR1B* rs10830963 génvariánsnak - saját eredményeink alapján is - esetleg szerepe lehet a személyre szabott GDM orvoslásban a jövőben.

## 7. Összefoglalás

Vizsgálataim két főbb részből álltak: Az első vizsgálat során a DPP4-inkretin rendszert vizsgáltuk GDM és kontroll terhességből született újszülöttek köldökzsínórvérében.

A KZS-vér szérum DPP4 enzimaktivitás meghatározás és a KZS-vér plazma aktív GLP-1<sup>7-36</sup> koncentrációk mérése történt. Tudomásunk szerint elsőként számolunk be a DPP4-inkretin rendszer változásairól KZS-vérben GDM-mel szövődött terhességből született egyénekben nem diabeteses terhességből születettekéhez képest. A GDM-es édesanyák újszülöttjeinek KZS-véréből mért sDPP4 aktivitás szignifikánsan alacsonyabb, mint a nem cukorbeteg várandósok újszülöttjeinek KZS-véréből mért sDPP4 aktivitás. Az alacsonyabb mintaelemszámmal végzett vizsgálataink során ehhez társulóan a KZS-vérben plazma minták aktív GLP-1<sup>7-36</sup> koncentrációjában nem tudtunk különbséget kimutatni a GDM és nem diabeteses csoportok között, a KZS-vér plazmában az aktív GLP-1<sup>7-36</sup> hormonszintek összességében is alacsonyak voltak. A terhességi cukorbeteg újszülöttjeinek csökkent KZS szérum DPP4 aktivitása lehet egy adaptív fetális válasz vagy egy korai regulációs zavar része az entero-inzuláris tengelyben és akár több, klinikailag jelentős szövődmény kialakulásában sem zárható ki kórtani szerepe. Az inkretin rendszer – az alacsonyabb aktív GLP-1<sup>7-36</sup> hormonszintek alapján – funkcionálisan valószínűsíthetően nem teljesen aktív az orális táplálás megkezdése előtt, de az erre vonatkozó további adatok a születést követően limitáltak. A vizsgálatok másik része genetikai jellegű volt, amelynek során egy nagyobb nemzetközi kutatásba kapcsolódhattam be, ami 77 génvariáns lehetséges asszociációját vizsgálta GDM-mel. A vizsgálat eredményei alapján megállapítottuk, hogy az *MTNR1B* rs10830963/ *G* allélhordozásnak volt a legnagyobb genetikai hatása a magyar és az osztrák terhes személyekben a GDM kialakulásra és a GDM szűrése céljából a várandós személyek 75g-os rutin OGTT éhomi és 2 órás plazma glükóz értékeire. Az *MTNR1B* rs10830963 *G* kockázati allél frekvenciája Magyarországon is gyakori (átlagos populációban 29%-os), ami egyezik a 1000 Genomes program keretében mért európai minor allél frekvenciával. A genetikai hatás nagysága és az rs10830963 *G* kockázati allél hordozásának gyakorisága alapján (az EFSD NH vizsgálat alapján a magyar populáció közel fele az rs10830963 kockázati variáns hordozó) az *MTNR1B* rs10830963 genotípushoz tartozó kockázatnövekedésnek hazánkban is számottevő szerepe lehet a GDM betegség kialakulásában.

## 8. Summary

The study consisted of two parts: In the first part we assessed the DPP4-incretin system in cord blood samples collected from GDM and control pregnancies. We measured cord blood serum DPP4 enzyme activity and cord blood active GLP-1<sup>7-36</sup> plasma concentrations. In contrast with our initial expectations sDPP4 enzyme activity was significantly lower in cord blood samples of neonates born to mothers with GDM compared to the nondiabetic group.

To our knowledge, this was the first study that assessed the sDPP4 activity and active GLP-1<sup>7-36</sup> hormone levels in cord blood samples of neonates born to GDM and nondiabetic mothers. We did not find significant difference between the cord blood plasma active GLP-1<sup>7-36</sup> concentrations between the GDM and nondiabetic groups in the measurements performed on a smaller sample size. We report that the active GLP-1<sup>7-36</sup> levels are close to the lower detection limit in the human cord plasma in majority of the cases. The decreased cord serum DPP4 activity in GDM might be the result of an adaptive foetal response or an early dysregulation in the entero-insular axis and its pathological role in several, clinically significant complications might not be excluded. The incretin system – based on the lower active GLP-1<sup>7-36</sup> hormone levels – presumably is not fully active before the initiation of oral feeding but further findings related to the postpartum period are limited. The second part was a genetic study. I had the opportunity to join an international study group which assessed the possible association between 77 gene variants and GDM and I present some of those results in Hungarian. In this study we found that in pregnant populations from Hungary and Austria the *MTNR1B* rs10830963/ *G* allele carrying had the most robust association with GDM development and also with glycemic traits, including both the fasting and the post-challenge (2 hours) PG values at routine 75g OGTT. The study confirmed that the *MTNR1B* *G* allele frequency is also high in Hungary (29% in the general population) and these data are in concordance with the minor allele frequency of European population assessed in the 1000 Genomes project. Based on the magnitude of the effect size and the allele frequency of the casual *MTNR1B* rs10830963 (nearly half of the Hungarian pregnant population is carrying the risk variant of rs10830963 according to the EFSD NH Study results) the increased risk associated to the *MTNR1B* rs10830963 genotype might have a significant role in GDM development also in our country.

## 9. Irodalomjegyzék

1. Roglic G, World Health Organization: Global report on diabetes. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2016. 86 pages p.
2. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 7th edn. Brussels, Belgium:  
International Diabetes Federation, 2015.
3. Evans JM, Newton RW, Ruta DA, et al.: Socio-economic status, obesity and prevalence of Type 1 and Type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med*, 2000, 17(6), 478-480.
4. Boyle JP, Engelgau MM, Thompson TJ, et al.: Estimating prevalence of type 1 and type 2 diabetes in a population of African Americans with diabetes mellitus. *Am J Epidemiol*, 1999, 149(1), 55-63.
5. Bruno G, Runzo C, Cavallo-Perin P, et al.: Incidence of type 1 and type 2 diabetes in adults aged 30-49 years: the population-based registry in the province of Turin, Italy. *Diabetes Care*, 2005, 28(11), 2613-2619.
6. Holman N, Young B, Gadsby R: Current prevalence of Type 1 and Type 2 diabetes in adults and children in the UK. *Diabet Med*, 2015, 32(9), 1119-1120.
7. Diagnostic criteria and classification of hyperglycaemia first detected in pregnancy: a World Health Organization Guideline. *Diabetes Res Clin Pract*, 2014, 103(3), 341-363.
8. Bilous RW, Donnelly R, Williams G: Handbook of diabetes. 4th edition. ed. Malden, Mass.: Blackwell Publishing, a John Wiley & Sons, Ltd., Publication; 2010. x, 238 pages p.
9. Barkai L BL, Halmos T, Hidvégi T, Jermendy Gy, Kaló Z, Madácsy L, Vándorfi Gy, Winkler G, Wittmann I: Nemzeti Diabetesprogram. *Diabetologia Hungarica*, 2011, XIX.(3. Supplementum), 5-39.
10. Vokó Z NnL, Kaló Z: A cukorbetegség direkt egészségügyi költségei Magyarországon (Direct healthcare costs of diabetes in Hungary). *LAM* 2009, 19, 775-780.
11. Jermendy G, Kempler P, Abonyi-Toth Z, et al.: [Changes in features of diabetes care in Hungary in the period of years 2001-2014. Aims and methods of the database analysis of the National Health Insurance Fund]. *Orv Hetil*, 2016, 157(32), 1259-1265.
12. Achenbach P, Bonifacio E, Koczwara K, et al.: Natural history of type 1 diabetes. *Diabetes*, 2005, 54 Suppl 2, S25-31.
13. Tabak AG, Jokela M, Akbaraly TN, et al.: Trajectories of glycaemia, insulin sensitivity, and insulin secretion before diagnosis of type 2 diabetes: an analysis from the Whitehall II study. *Lancet*, 2009, 373(9682), 2215-2221.
14. DeFronzo RA: Banting Lecture. From the triumvirate to the ominous octet: a new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes*, 2009, 58(4), 773-795.
15. DeFronzo RA, Ferrannini E, Simonson DC: Fasting hyperglycemia in non-insulin-dependent diabetes mellitus: contributions of excessive hepatic glucose production and impaired tissue glucose uptake. *Metabolism*, 1989, 38(4), 387-395.



16. Groop LC, Bonadonna RC, DelPrato S, et al.: Glucose and free fatty acid metabolism in non-insulin-dependent diabetes mellitus. Evidence for multiple sites of insulin resistance. *J Clin Invest*, 1989, 84(1), 205-213.
17. Jameson JL: *Endocrinology : adult & pediatric*. 7th edition. ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2016. 2 volumes (xvii, 2687, 2677 pages) p.
18. Ferrannini E, Simonson DC, Katz LD, et al.: The disposal of an oral glucose load in patients with non-insulin-dependent diabetes. *Metabolism*, 1988, 37(1), 79-85.
19. Fuchsberger C, Flannick J, Teslovich TM, et al.: The genetic architecture of type 2 diabetes. *Nature*, 2016, 536(7614), 41-47.
20. McCarthy MI: Genomics, type 2 diabetes, and obesity. *N Engl J Med*, 2010, 363(24), 2339-2350.
21. Prokopenko I, McCarthy MI, Lindgren CM: Type 2 diabetes: new genes, new understanding. *Trends Genet*, 2008, 24(12), 613-621.
22. Ren Q. Characteristics of Glucose Disposal Index in General Population in China 2013.
23. Hulman A, Simmons RK, Brunner EJ, et al.: Trajectories of glycaemia, insulin sensitivity and insulin secretion in South Asian and white individuals before diagnosis of type 2 diabetes: a longitudinal analysis from the Whitehall II cohort study. *Diabetologia*, 2017, 60(7), 1252-1260.
24. Zs T. Diabetes mellitus In: Jermendy Gy HfN, editor. *A belgyógyászat alapjai II*. Budapest: Medicina; 2011. p. 1577-1634.
25. Donath MY, Ehses JA, Maedler K, et al.: Mechanisms of beta-cell death in type 2 diabetes. *Diabetes*, 2005, 54 Suppl 2, S108-113.
26. Schuit F, Halban P, Rhodes C: 10th EASD/JDRF Oxford Workshop. What is a beta-cell and can we improve it? *Diabetologia*, 2005, 48(11), R93-101.
27. Cinti F, Bouchi R, Kim-Muller JY, et al.: Evidence of beta-Cell Dedifferentiation in Human Type 2 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016, 101(3), 1044-1054.
28. Kim JW, Ko SH, Cho JH, et al.: Loss of beta-cells with fibrotic islet destruction in type 2 diabetes mellitus. *Front Biosci*, 2008, 13, 6022-6033.
29. Kiss K, Baghy K, Spisak S, et al.: Chronic hyperglycemia induces trans-differentiation of human pancreatic stellate cells and enhances the malignant molecular communication with human pancreatic cancer cells. *PLoS One*, 2015, 10(5), e0128059.
30. Alberti G, Zimmet P, Shaw J, et al.: Type 2 diabetes in the young: the evolving epidemic: the international diabetes federation consensus workshop. *Diabetes Care*, 2004, 27(7), 1798-1811.
31. Mazzaccara C, lafusco D, Liguori R, et al.: Mitochondrial diabetes in children: seek and you will find it. *PLoS One*, 2012, 7(4), e34956.
32. Hart PA, Bellin MD, Andersen DK, et al.: Type 3c (pancreatogenic) diabetes mellitus secondary to chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2016, 1(3), 226-237.
33. Holman RR, Paul SK, Bethel MA, et al.: 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *N Engl J Med*, 2008, 359(15), 1577-1589.
34. Ben Q, Xu M, Ning X, et al.: Diabetes mellitus and risk of pancreatic cancer: A meta-analysis of cohort studies. *Eur J Cancer*, 2011, 47(13), 1928-1937.

35. Emerging Risk Factors C, Seshasai SR, Kaptoge S, et al.: Diabetes mellitus, fasting glucose, and risk of cause-specific death. *N Engl J Med*, 2011, 364(9), 829-841.
36. Wang Z, Liu M: Life years lost associated with diabetes: An individually matched cohort study using the U.S. National Health Interview Survey data. *Diabetes Res Clin Pract*, 2016, 118, 69-76.
37. Joslin EP, Kahn CR: *Joslin's diabetes mellitus*. 14th ed. Philadelphia, Pa.: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. xiv, 1209 p. p.
38. Jermendy G, Nadas J, Szigethy E, et al.: Prevalence rate of diabetes mellitus and impaired fasting glycemia in Hungary: cross-sectional study on nationally representative sample of people aged 20-69 years. *Croat Med J*, 2010, 51(2), 151-156.
39. Al-Aissa Z, Hadarits O, Rosta K, et al.: [A brief of gestational diabetes mellitus, risk factors and current criteria of diagnosis]. *Orv Hetil*, 2017, 158(8), 283-290.
40. Mouzon SH, Lassance L: Endocrine and metabolic adaptations to pregnancy; impact of obesity. *Horm Mol Biol Clin Investig*, 2015, 24(1), 65-72.
41. Cseh K, Baranyi E, Melczer Z, et al.: Plasma adiponectin and pregnancy-induced insulin resistance. *Diabetes Care*, 2004, 27(1), 274-275.
42. Baz B, Riveline JP, Gautier JF: ENDOCRINOLOGY OF PREGNANCY: Gestational diabetes mellitus: definition, aetiological and clinical aspects. *Eur J Endocrinol*, 2016, 174(2), R43-51.
43. Catalano PM, Tyzbir ED, Roman NM, et al.: Longitudinal changes in insulin release and insulin resistance in nonobese pregnant women. *Am J Obstet Gynecol*, 1991, 165(6 Pt 1), 1667-1672.
44. King H: Epidemiology of glucose intolerance and gestational diabetes in women of childbearing age. *Diabetes Care*, 1998, 21 Suppl 2, B9-13.
45. Engelgau MM, Herman WH, Smith PJ, et al.: The epidemiology of diabetes and pregnancy in the U.S., 1988. *Diabetes Care*, 1995, 18(7), 1029-1033.
46. MDT: A diabetes mellitus kórismézése, a cukorbetegség kezelése és gondozása a felnőttkorban  
A Magyar Diabetes Társaság szakmai irányelve, 2014. Budapest: Tudomány Kiadó Kft.; 2014. Available from:  
[https://www.doki.net/tarsasag/diabetes/upload/diabetes/document/dh14s1\\_szakmaiiranyelv\\_2014.pdf?web\\_id=96F8AA8418816A3](https://www.doki.net/tarsasag/diabetes/upload/diabetes/document/dh14s1_szakmaiiranyelv_2014.pdf?web_id=96F8AA8418816A3).
47. Association AD: *Standards of Medical Care in Diabetes - 2017* 2017.
48. Ferrara A: Increasing prevalence of gestational diabetes mellitus: a public health perspective. *Diabetes Care*, 2007, 30 Suppl 2, S141-146.
49. Tutino GE, Tam WH, Yang X, et al.: Diabetes and pregnancy: perspectives from Asia. *Diabet Med*, 2014, 31(3), 302-318.
50. Leng J, Shao P, Zhang C, et al.: Prevalence of gestational diabetes mellitus and its risk factors in Chinese pregnant women: a prospective population-based study in Tianjin, China. *PLoS One*, 2015, 10(3), e0121029.
51. Kun A, Tornoczky, J., Sudar, Z., Kerényi, Z., Tabak, A.G.: Pregnancy outcomes of women with untreated GDM (according to the WHO 2013 diagnostic criteria). European Association for the Study of Diabetes 51th Annual Meeting; 14-18 September, 2015; Stockholm 2015. *Diabetologia*2015.

52. Pátkay J, VSL, Medve L. : Gestatiós diabétesz szűrés Dunaújvárosban. Tíz év eredményei, tapasztalatai (Screening of gestational diabetes in Dunaújváros. Results and experiences of 10 years). *Magy Belorv Arch* 1997 , 50, 635-639.
53. Winkler G, HP, Dömötöri J. : Tesztreggeli vagy orális glukózterhelés a gestatiós diabétes mellitus kórismezésében? (Test breakfast or oral glucose challenge in the diagnosis of diabetes?). *Magyar Belorv Arch*, 1995, 48, 169-171.
54. Kerényi Z, Bosnyák, Zs., Péterfalvi, A. : Prevalence of gestational diabetes mellitus: three years results of a Hungarian validated, full spectrum screening programe (A gestatiós diabétes előfordulási gyakorisága: validált, teljes körű hazai szűrés hároméves eredményei). *Magy Belorv Arch*, 2011, 64, 349-356.
55. Kim C, Newton KM, Knopp RH: Gestational diabetes and the incidence of type 2 diabetes: a systematic review. *Diabetes Care*, 2002, 25(10), 1862-1868.
56. Retnakaran R, Shah BR: Role of Type 2 Diabetes in Determining Retinal, Renal, and Cardiovascular Outcomes in Women With Previous Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 2016.
57. Dabelea D, Mayer-Davis EJ, Lamichhane AP, et al.: Association of intrauterine exposure to maternal diabetes and obesity with type 2 diabetes in youth: the SEARCH Case-Control Study. *Diabetes Care*, 2008, 31(7), 1422-1426.
58. Branchtein L, Schmidt MI, Matos MC, et al.: Short stature and gestational diabetes in Brazil. Brazilian Gestational Diabetes Study Group. *Diabetologia*, 2000, 43(7), 848-851.
59. Sato Y, Iguchi A, Sakamoto N: Biochemical determination of training effects using insulin clamp technique. *Horm Metab Res*, 1984, 16(9), 483-486.
60. Helmrich SP, Ragland DR, Leung RW, et al.: Physical activity and reduced occurrence of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 1991, 325(3), 147-152.
61. Retnakaran R, Qi Y, Sermer M, et al.: Pre-gravid physical activity and reduced risk of glucose intolerance in pregnancy: the role of insulin sensitivity. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2009, 70(4), 615-622.
62. Liu J, Laditka JN, Mayer-Davis EJ, et al.: Does physical activity during pregnancy reduce the risk of gestational diabetes among previously inactive women? *Birth*, 2008, 35(3), 188-195.
63. Zhang C, Solomon CG, Manson JE, et al.: A prospective study of pregravid physical activity and sedentary behaviors in relation to the risk for gestational diabetes mellitus. *Arch Intern Med*, 2006, 166(5), 543-548.
64. Oken E, Ning Y, Rifas-Shiman SL, et al.: Associations of physical activity and inactivity before and during pregnancy with glucose tolerance. *Obstet Gynecol*, 2006, 108(5), 1200-1207.
65. Dempsey JC, Butler CL, Sorensen TK, et al.: A case-control study of maternal recreational physical activity and risk of gestational diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*, 2004, 66(2), 203-215.
66. Zhang C, Schulze MB, Solomon CG, et al.: A prospective study of dietary patterns, meat intake and the risk of gestational diabetes mellitus. *Diabetologia*, 2006, 49(11), 2604-2613.

67. Zhang C, Liu S, Solomon CG, et al.: Dietary fiber intake, dietary glycemic load, and the risk for gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 2006, 29(10), 2223-2230.
68. Rimm EB, Manson JE, Stampfer MJ, et al.: Cigarette smoking and the risk of diabetes in women. *Am J Public Health*, 1993, 83(2), 211-214.
69. Centers for Disease C, Prevention: Smoking during pregnancy--United States, 1990-2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2004, 53(39), 911-915.
70. Solomon CG, Willett WC, Carey VJ, et al.: A prospective study of pregravid determinants of gestational diabetes mellitus. *JAMA*, 1997, 278(13), 1078-1083.
71. Chu SY, Callaghan WM, Kim SY, et al.: Maternal obesity and risk of gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 2007, 30(8), 2070-2076.
72. Hedderon MM, Williams MA, Holt VL, et al.: Body mass index and weight gain prior to pregnancy and risk of gestational diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol*, 2008, 198(4), 409 e401-407.
73. Simmons D, Devlieger R, van Assche A, et al.: Effect of physical activity and/or healthy eating on GDM risk: The DALI Lifestyle Study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016, jc20163455.
74. Klinger A. A késői gyermekvállalás problémái In: Nagy Ildikó PT, Tóth István György, editor. Szerepváltozások: Jelentés a nők és férfiak helyzetéről 2001: TÁRKI és a Szociális és Családügyi Minisztérium Nőképviselési Titkársága 2001.
75. Kun A, Tornoczky J, Tabak AG: The prevalence and predictors of gestational diabetes mellitus in Hungary. *Horm Metab Res*, 2011, 43(11), 788-793.
76. Ben-Haroush A, Yogev Y, Hod M: Epidemiology of gestational diabetes mellitus and its association with Type 2 diabetes. *Diabet Med*, 2004, 21(2), 103-113.
77. Zhang C, Bao W, Rong Y, et al.: Genetic variants and the risk of gestational diabetes mellitus: a systematic review. *Hum Reprod Update*, 2013, 19(4), 376-390.
78. Wu L, Cui L, Tam WH, et al.: Genetic variants associated with gestational diabetes mellitus: a meta-analysis and subgroup analysis. *Sci Rep*, 2016, 6, 30539.
79. Noctor E, Dunne FP: Type 2 diabetes after gestational diabetes: The influence of changing diagnostic criteria. *World J Diabetes*, 2015, 6(2), 234-244.
80. Williams MA, Qiu C, Dempsey JC, et al.: Familial aggregation of type 2 diabetes and chronic hypertension in women with gestational diabetes mellitus. *J Reprod Med*, 2003, 48(12), 955-962.
81. Kuhl C: Etiology and pathogenesis of gestational diabetes. *Diabetes Care*, 1998, 21 Suppl 2, B19-26.
82. Robitaille J, Grant AM: The genetics of gestational diabetes mellitus: evidence for relationship with type 2 diabetes mellitus. *Genet Med*, 2008, 10(4), 240-250.
83. Huopio H, Cederberg H, Vangipurapu J, et al.: Association of risk variants for type 2 diabetes and hyperglycemia with gestational diabetes. *Eur J Endocrinol*, 2013, 169(3), 291-297.
84. Prasad RB, Groop L: Genetics of type 2 diabetes-pitfalls and possibilities. *Genes (Basel)*, 2015, 6(1), 87-123.
85. Lauenborg J, Grarup N, Damm P, et al.: Common type 2 diabetes risk gene variants associate with gestational diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 2009, 94(1), 145-150.

86. Yaghootkar H, Bancks MP, Jones SE, et al.: Quantifying the extent to which index event biases influence large genetic association studies. *Hum Mol Genet*, 2017, 26(5), 1018-1030.
87. Chon SJ, Kim SY, Cho NR, et al.: Association of variants in PPARgamma(2), IGF2BP2, and KCNQ1 with a susceptibility to gestational diabetes mellitus in a Korean population. *Yonsei Med J*, 2013, 54(2), 352-357.
88. Kim JY, Cheong HS, Park BL, et al.: Melatonin receptor 1 B polymorphisms associated with the risk of gestational diabetes mellitus. *BMC Med Genet*, 2011, 12, 82.
89. Klein K, Haslinger P, Bancher-Todesca D, et al.: Transcription factor 7-like 2 gene polymorphisms and gestational diabetes mellitus. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2012, 25(9), 1783-1786.
90. Montazeri S, Nalliah S, Radhakrishnan AK: Is there a genetic variation association in the IL-10 and TNF alpha promoter gene with gestational diabetes mellitus? *Hereditas*, 2010, 147(2), 94-102.
91. Lowe WL, Jr., Scholtens DM, Sandler V, et al.: Genetics of Gestational Diabetes Mellitus and Maternal Metabolism. *Curr Diab Rep*, 2016, 16(2), 15.
92. Prokopenko I, Langenberg C, Florez JC, et al.: Variants in MTNR1B influence fasting glucose levels. *Nat Genet*, 2009, 41(1), 77-81.
93. Peschke E, Bahr I, Muhlbauer E: Melatonin and pancreatic islets: interrelationships between melatonin, insulin and glucagon. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(4), 6981-7015.
94. Poulsen P, Levin K, Petersen I, et al.: Heritability of insulin secretion, peripheral and hepatic insulin action, and intracellular glucose partitioning in young and old Danish twins. *Diabetes*, 2005, 54(1), 275-283.
95. Huerta-Chagoya A, Vazquez-Cardenas P, Moreno-Macias H, et al.: Genetic determinants for gestational diabetes mellitus and related metabolic traits in Mexican women. *PLoS One*, 2015, 10(5), e0126408.
96. Kwak SH, Kim SH, Cho YM, et al.: A genome-wide association study of gestational diabetes mellitus in Korean women. *Diabetes*, 2012, 61(2), 531-541.
97. Persaud SJ, Jones PM: A Wake-up Call for Type 2 Diabetes? *N Engl J Med*, 2016, 375(11), 1090-1092.
98. Gaulton KJ, Ferreira T, Lee Y, et al.: Genetic fine mapping and genomic annotation defines causal mechanisms at type 2 diabetes susceptibility loci. *Nat Genet*, 2015, 47(12), 1415-1425.
99. Mulder H: Melatonin signalling and type 2 diabetes risk: too little, too much or just right? *Diabetologia*, 2017, 60(5), 826-829.
100. Hadden DR, Hillebrand B: The first recorded case of diabetic pregnancy (Bennewitz HG, 1824, University of Berlin). *Diabetologia*, 1989, 32(8), 625.
101. Negrato CA, Gomes MB: Historical facts of screening and diagnosing diabetes in pregnancy. *Diabetol Metab Syndr*, 2013, 5(1), 22.
102. Pedersen J, Osler M: Hyperglycemia as the cause of characteristic features of the foetus and newborn of diabetic mothers. *Dan Med Bull*, 1961, 8, 78-83.
103. O'Sullivan JB, Mahan CM: Criteria for the Oral Glucose Tolerance Test in Pregnancy. *Diabetes*, 1964, 13, 278-285.

104. O'Sullivan JB, Gellis SS, Dandrow RV, et al.: The potential diabetic and her treatment in pregnancy. *Obstet Gynecol*, 1966, 27(5), 683-689.
105. J. S. Diabetes és terhesség. In: Magyar I. TG, editor. *Diabetes mellitus*. Budapest: Medicina Könyvkiadó; 1979. p. 317-332.
106. M. BG: *A diabetológia története*. Budapest: Akadémiai Kiadó; 2010.
107. Crowther CA, Hiller JE, Moss JR, et al.: Effect of treatment of gestational diabetes mellitus on pregnancy outcomes. *N Engl J Med*, 2005, 352(24), 2477-2486.
108. Landon MB, Spong CY, Thom E, et al.: A multicenter, randomized trial of treatment for mild gestational diabetes. *N Engl J Med*, 2009, 361(14), 1339-1348.
109. Metzger BE: Summary and recommendations of the Third International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes*, 1991, 40 Suppl 2, 197-201.
110. WHO/NCD/NCS/: *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus 1999*; 99.2.
111. Agarwal MM: Gestational diabetes mellitus: An update on the current international diagnostic criteria. *World J Diabetes*, 2015, 6(6), 782-791.
112. Group HSCR, Metzger BE, Lowe LP, et al.: Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *N Engl J Med*, 2008, 358(19), 1991-2002.
113. Gibler WB, Blomkalns AL: Achieving standardization in clinical research: changing cacophony into harmony. *Ann Emerg Med*, 2004, 44(3), 213-214.
114. International Association of D, Pregnancy Study Groups Consensus P, Metzger BE, et al.: International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. *Diabetes Care*, 2010, 33(3), 676-682.
115. McIntyre HD, Sacks DA, Barbour LA, et al.: Issues With the Diagnosis and Classification of Hyperglycemia in Early Pregnancy. *Diabetes Care*, 2016, 39(1), 53-54.
116. American Diabetes A: 12. Management of Diabetes in Pregnancy. *Diabetes Care*, 2016, 39 Suppl 1, S94-98.
117. Sweeting AN, Ross GP, Hyett J, et al.: Gestational Diabetes Mellitus in Early Pregnancy: Evidence for Poor Pregnancy Outcomes Despite Treatment. *Diabetes Care*, 2016, 39(1), 75-81.
118. Alkalay AL, Sarnat HB, Flores-Sarnat L, et al.: Population meta-analysis of low plasma glucose thresholds in full-term normal newborns. *Am J Perinatol*, 2006, 23(2), 115-119.
119. Coustan DR, Lowe LP, Metzger BE, et al.: 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 e651-656.
120. Hadarits O, Zoka A, Barna G, et al.: Increased Proportion of Hematopoietic Stem and Progenitor Cell Population in Cord Blood of Neonates Born to Mothers with Gestational Diabetes Mellitus. *Stem Cells Dev*, 2016, 25(1), 13-17.
121. Sarkar S, Watman J, Seigel WM, et al.: A prospective controlled study of neonatal morbidities in infants born at 36 weeks or more gestation to Women with diet-controlled gestational diabetes (GDM-class A1). *J Perinatol*, 2003, 23(3), 223-228.
122. Hay WW, Jr.: Care of the infant of the diabetic mother. *Curr Diab Rep*, 2012, 12(1), 4-15.

123. Madsen H, Ditzel J: Red cell 2,3-diphosphoglycerate and hemoglobin-oxygen affinity during diabetic pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 1984, 63(5), 403-406.
124. Madazli R, Tuten A, Calay Z, et al.: The incidence of placental abnormalities, maternal and cord plasma malondialdehyde and vascular endothelial growth factor levels in women with gestational diabetes mellitus and nondiabetic controls. *Gynecol Obstet Invest*, 2008, 65(4), 227-232.
125. Fadini GP, Albiero M, Seeger F, et al.: Stem cell compartmentalization in diabetes and high cardiovascular risk reveals the role of DPP-4 in diabetic stem cell mobilopathy. *Basic Res Cardiol*, 2013, 108(1), 313.
126. Brown MA, Lindheimer MD, de Swiet M, et al.: The classification and diagnosis of the hypertensive disorders of pregnancy: statement from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). *Hypertens Pregnancy*, 2001, 20(1), IX-XIV.
127. Ma RC, Tutino GE, Lillycrop KA, et al.: Maternal diabetes, gestational diabetes and the role of epigenetics in their long term effects on offspring. *Prog Biophys Mol Biol*, 2015, 118(1-2), 55-68.
128. Brelje TC, Scharp DW, Lacy PE, et al.: Effect of homologous placental lactogens, prolactins, and growth hormones on islet B-cell division and insulin secretion in rat, mouse, and human islets: implication for placental lactogen regulation of islet function during pregnancy. *Endocrinology*, 1993, 132(2), 879-887.
129. Goffin V, Shiverick KT, Kelly PA, et al.: Sequence-function relationships within the expanding family of prolactin, growth hormone, placental lactogen, and related proteins in mammals. *Endocr Rev*, 1996, 17(4), 385-410.
130. Vasavada RC, Garcia-Ocana A, Zawalich WS, et al.: Targeted expression of placental lactogen in the beta cells of transgenic mice results in beta cell proliferation, islet mass augmentation, and hypoglycemia. *J Biol Chem*, 2000, 275(20), 15399-15406.
131. Osmond DT, King RG, Brennecke SP, et al.: Placental glucose transport and utilisation is altered at term in insulin-treated, gestational-diabetic patients. *Diabetologia*, 2001, 44(9), 1133-1139.
132. Osmond DT, Nolan CJ, King RG, et al.: Effects of gestational diabetes on human placental glucose uptake, transfer, and utilisation. *Diabetologia*, 2000, 43(5), 576-582.
133. Ruiz-Palacios M, Ruiz-Alcaraz AJ, Sanchez-Campillo M, et al.: Role of Insulin in Placental Transport of Nutrients in Gestational Diabetes Mellitus. *Ann Nutr Metab*, 2017, 70(1), 16-25.
134. Nauck MA, Homberger E, Siegel EG, et al.: Incretin effects of increasing glucose loads in man calculated from venous insulin and C-peptide responses. *J Clin Endocrinol Metab*, 1986, 63(2), 492-498.
135. Nauck MA: Incretin-based therapies for type 2 diabetes mellitus: properties, functions, and clinical implications. *Am J Med*, 2011, 124(1 Suppl), S3-18.
136. Klonoff DC: Incretin therapy for type 2 diabetes mellitus. *Adv Ther*, 2010, 27(12), 881-894.
137. Drucker DJ: The biology of incretin hormones. *Cell Metab*, 2006, 3(3), 153-165.
138. Kazafeos K: Incretin effect: GLP-1, GIP, DPP4. *Diabetes Res Clin Pract*, 2011, 93 Suppl 1, S32-36.
139. Winkler G: [The physiology of incretins]. *Orv Hetil*, 2011, 152(48), 1922-1930.

140. Baggio LL, Drucker DJ: Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology*, 2007, 132(6), 2131-2157.
141. Schirra J, Katschinski M, Weidmann C, et al.: Gastric emptying and release of incretin hormones after glucose ingestion in humans. *J Clin Invest*, 1996, 97(1), 92-103.
142. Gorrell MD: Dipeptidyl peptidase IV and related enzymes in cell biology and liver disorders. *Clin Sci (Lond)*, 2005, 108(4), 277-292.
143. Gorrell MD, Gysbers V, McCaughan GW: CD26: a multifunctional integral membrane and secreted protein of activated lymphocytes. *Scand J Immunol*, 2001, 54(3), 249-264.
144. Firneisz G, Varga T, Lengyel G, et al.: Serum dipeptidyl peptidase-4 activity in insulin resistant patients with non-alcoholic fatty liver disease: a novel liver disease biomarker. *PLoS One*, 2010, 5(8), e12226.
145. Lamers D, Famulla S, Wronkowitz N, et al.: Dipeptidyl peptidase 4 is a novel adipokine potentially linking obesity to the metabolic syndrome. *Diabetes*, 2011, 60(7), 1917-1925.
146. Varga T, Somogyi A, Barna G, et al.: Higher serum DPP-4 enzyme activity and decreased lymphocyte CD26 expression in type 1 diabetes. *Pathol Oncol Res*, 2011, 17(4), 925-930.
147. Ikushima H, Munakata Y, Iwata S, et al.: Soluble CD26/dipeptidyl peptidase IV enhances transendothelial migration via its interaction with mannose 6-phosphate/insulin-like growth factor II receptor. *Cell Immunol*, 2002, 215(1), 106-110.
148. Drucker DJ: Therapeutic potential of dipeptidyl peptidase IV inhibitors for the treatment of type 2 diabetes. *Expert Opin Investig Drugs*, 2003, 12(1), 87-100.
149. Richter B, Bandeira-Echtler E, Bergerhoff K, et al.: Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitors for type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev*, 2008, (2), CD006739.
150. Vlahovic P, Avramovic V, Stankovic M, et al.: Elevated serum dipeptidyl peptidase IV activity in patients with chronic tonsillitis. *Ann Clin Biochem*, 2007, 44(Pt 1), 70-74.
151. Keane NM, Price P, Lee S, et al.: An evaluation of serum soluble CD30 levels and serum CD26 (DPP-IV) enzyme activity as markers of type 2 and type 1 cytokines in HIV patients receiving highly active antiretroviral therapy. *Clin Exp Immunol*, 2001, 126(1), 111-116.
152. Firneisz G, Lakatos PL, Szalay F, et al.: Serum dipeptidyl peptidase IV (DPP IV, CD26) activity in chronic hepatitis C. *Scand J Gastroenterol*, 2001, 36(8), 877-880.
153. Schonermarck U, Csernok E, Trabandt A, et al.: Circulating cytokines and soluble CD23, CD26 and CD30 in ANCA-associated vasculitides. *Clin Exp Rheumatol*, 2000, 18(4), 457-463.
154. Maes M, De Meester I, Verkerk R, et al.: Lower serum dipeptidyl peptidase IV activity in treatment resistant major depression: relationships with immune-inflammatory markers. *Psychoneuroendocrinology*, 1997, 22(2), 65-78.
155. Elgun S, Keskinoglu A, Kumbasar H: Dipeptidyl peptidase IV and adenosine deaminase activity. Decrease in depression. *Psychoneuroendocrinology*, 1999, 24(8), 823-832.



156. Stancikova M, Lojda Z, Lukac J, et al.: Dipeptidyl peptidase IV in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol*, 1992, 10(4), 381-385.
157. Hildebrandt M, Rose M, Ruter J, et al.: Dipeptidyl peptidase IV (DP IV, CD26) in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol*, 2001, 36(10), 1067-1072.
158. Ohnuma K, Takahashi N, Yamochi T, et al.: Role of CD26/dipeptidyl peptidase IV in human T cell activation and function. *Front Biosci*, 2008, 13, 2299-2310.
159. Havre PA, Abe M, Urasaki Y, et al.: The role of CD26/dipeptidyl peptidase IV in cancer. *Front Biosci*, 2008, 13, 1634-1645.
160. Kajiyama H, Kikkawa F, Maeda O, et al.: Increased expression of dipeptidyl peptidase IV in human mesothelial cells by malignant ascites from ovarian carcinoma patients. *Oncology*, 2002, 63(2), 158-165.
161. Zhang MZ, Qiao YH, Suo ZH: [Correlation of DPPIV expression with clinicopathological features and prognosis in epithelial ovarian carcinoma]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, 2008, 30(11), 848-852.
162. Van den Oord JJ: Expression of CD26/dipeptidyl-peptidase IV in benign and malignant pigment-cell lesions of the skin. *Br J Dermatol*, 1998, 138(4), 615-621.
163. Cordero OJ, Salgado FJ, Mera-Varela A, et al.: Serum interleukin-12, interleukin-15, soluble CD26, and adenosine deaminase in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int*, 2001, 21(2), 69-74.
164. Kelemen K, Guitart J, Kuzel TM, et al.: The usefulness of CD26 in flow cytometric analysis of peripheral blood in Sezary syndrome. *Am J Clin Pathol*, 2008, 129(1), 146-156.
165. Bock O, Kreiselmeyer I, Mrowietz U: Expression of dipeptidyl-peptidase IV (CD26) on CD8+ T cells is significantly decreased in patients with psoriasis vulgaris and atopic dermatitis. *Exp Dermatol*, 2001, 10(6), 414-419.
166. Deacon CF, Ahren B: Physiology of incretins in health and disease. *Rev Diabet Stud*, 2011, 8(3), 293-306.
167. Stremenova J, Mares V, Lisa V, et al.: Expression of dipeptidyl peptidase-IV activity and/or structure homologs in human meningiomas. *Int J Oncol*, 2010, 36(2), 351-358.
168. Lencioni C, Resi V, Romero F, et al.: Glucagon-like peptide-1 secretion in women with gestational diabetes mellitus during and after pregnancy. *J Endocrinol Invest*, 2011, 34(9), e287-290.
169. Cypryk K, Vilsboll T, Nadel I, et al.: 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.
170. Mikolajczyk RT, Zhang J, Betran AP, et al.: A global reference for fetal-weight and birthweight percentiles. *Lancet*, 2011, 377(9780), 1855-1861.
171. Firneisz G: *EFSD New Horizons*. Budapest, Vienna: EFSD; 2011.
172. Rosta K, Al-Aissa Z, Hadarits O, et al.: Association Study with 77 SNPs Confirms the Robust Role for the rs10830963/G of MTNR1B Variant and Identifies Two Novel Associations in Gestational Diabetes Mellitus Development. *PLoS One*, 2017, 12(1), e0169781.

173. Al-Aissa Z, Rosta K, Hadarits O, et al.: Cord serum dipeptidyl-peptidase 4 activity in gestational diabetes. *Eur J Clin Invest*, 2015, 45(2), 196-203.
174. Fadini GP, Albiero M, Menegazzo L, et al.: The increased dipeptidyl peptidase-4 activity is not counteracted by optimized glucose control in type 2 diabetes, but is lower in metformin-treated patients. *Diabetes Obes Metab*, 2012, 14(6), 518-522.
175. Han SJ, Kim HJ, Choi SE, et al.: Incretin secretion and serum DPP-IV activity in Korean patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*, 2010, 89(3), e49-52.
176. Ryskjaer J, Deacon CF, Carr RD, et al.: Plasma dipeptidyl peptidase-IV activity in patients with type-2 diabetes mellitus correlates positively with HbA1c levels, but is not acutely affected by food intake. *Eur J Endocrinol*, 2006, 155(3), 485-493.
177. Mannucci E, Pala L, Ciani S, et al.: Hyperglycaemia increases dipeptidyl peptidase IV activity in diabetes mellitus. *Diabetologia*, 2005, 48(6), 1168-1172.
178. Brumbaugh DE, Tearse P, Cree-Green M, et al.: Intrahepatic fat is increased in the neonatal offspring of obese women with gestational diabetes. *J Pediatr*, 2013, 162(5), 930-936 e931.
179. Liu B, Deng S, Xu Y, et al.: Association between maternal and umbilical cord serum dipeptidyl peptidase IV in pregnant women with and without gestational diabetes mellitus. *J Obstet Gynaecol Res*, 2016, 42(5), 505-510.
180. Hadarits O A-AZ, Rosta K, Harreiter J, Zóka A, Bancher-Todesca D, Patócs A, Rigó J, Somogyi A, Kautzky-Willer A, Firneisz G: Decreased cord blood serum dipeptidyl-peptidase 4 (DPP4) enzymatic activity in gestational diabetes mellitus. *Diabetologia*, 2013, (56 Suppl 1. S72, A:161).
181. DiPersio JF: Diabetic stem-cell "mobilopathy". *N Engl J Med*, 2011, 365(26), 2536-2538.
182. Ntzani EE, Kavvoura FK: Genetic risk factors for type 2 diabetes: insights from the emerging genomic evidence. *Curr Vasc Pharmacol*, 2012, 10(2), 147-155.
183. Liao S, Liu Y, Tan Y, et al.: Association of genetic variants of melatonin receptor 1B with gestational plasma glucose level and risk of glucose intolerance in pregnant Chinese women. *PLoS One*, 2012, 7(7), e40113.
184. Vejrazkova D, Lukasova P, Vankova M, et al.: MTNR1B Genetic Variability Is Associated with Gestational Diabetes in Czech Women. *Int J Endocrinol*, 2014, 2014, 508923.
185. Li H, Gan W, Lu L, et al.: A genome-wide association study identifies GRK5 and RASGRP1 as type 2 diabetes loci in Chinese Hans. *Diabetes*, 2013, 62(1), 291-298.
186. Andrali SS, Sampley ML, Vanderford NL, et al.: Glucose regulation of insulin gene expression in pancreatic beta-cells. *Biochem J*, 2008, 415(1), 1-10.
187. Bonnefond A, Froguel P: The case for too little melatonin signalling in increased diabetes risk. *Diabetologia*, 2017, 60(5), 823-825.
188. Grotenfelt NE, Wasenius NS, Rono K, et al.: Interaction between rs10830963 polymorphism in MTNR1B and lifestyle intervention on occurrence of gestational diabetes. *Diabetologia*, 2016, 59(8), 1655-1658.
189. Firneisz G, Rosta K, Al-Aissa Z, et al.: The MTNR1B rs10830963 Variant in Interaction with Pre-Pregnancy BMI is a Pharmacogenetic Marker for the Initiation of Antenatal Insulin Therapy in Gestational Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(12).

## 10. Saját publikációk jegyzéke

### Az értekezés témájában megjelent eredeti közlemények:

Al-Aissa Z, Hadarits O, Rosta K, Zoka A, Rigo J Jr, Firneisz G, Somogyi A

A terhességi cukorbetegség rövid története, kockázati tényezői és diagnosztikája napjainkban

**Orvosi Hetilap 158:**(8) pp. 283-290. (2017)

Folyóiratcikk/Összefoglaló cikk/Tudományos

**IF: 0,349**

Rosta K, Al-Aissa Z, Hadarits O, Harreiter J, Nadasdi A, Kelemen F, Bancher-Todesca D, Komlosi Z, Nemeth L, Rigo J Jr, Sziller I, Somogyi A, Kautzky-Willer A, Firneisz G Association Study with 77 SNPs Confirms the Robust Role for the rs10830963/G of MTNR1B Variant and Identifies Two Novel Associations in Gestational Diabetes Mellitus Development

**PLOS ONE 12:**(1) Paper e0169781. 17 p. (2017)

Folyóiratcikk/Szaccikk/Tudományos

**IF: 2,806**

Al-Aissa Z, Rosta K, Hadarits O, Harreiter J, Zoka A, Bancher-Todesca D, Patocs A, Kiss K, Sarman B, Pusztai P, Sziller I, Rigo J, Racz K, Somogyi A, Kautzky-Willer A, Firneisz G

Cord serum dipeptidyl-peptidase 4 activity in gestational diabetes

**EUROPEAN JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION 45:**(2) pp. 196-203. (2015)

Folyóiratcikk/Szaccikk/Tudományos

**IF: 2,714**

**Egyéb- nem az értekezés témájában megjelent – eredeti közlemények:**

Hadarits O, Zoka A, Barna G, Al-Aissa Z, Rosta K, Rigo J Jr, Kautzky-Willer A, Somogyi A, Firneisz G

Increased proportion of hematopoietic stem and progenitor cell population in cord blood of neonates born to mothers with gestational diabetes mellitus.

**STEM CELLS AND DEVELOPMENT 25:(1)** pp- 13-17. (2016)

Folyóiratcikk/Szaccikk/Tudományos

**IF: 3,562**

Zóka A, Barna G, Hadarits O, Al-Aissa Z, Wichmann B, Múzes G, Somogyi A, Firneisz G Altered crosstalk in the dipeptidyl peptidase-4-incretin-immune system in type 1 diabetes: a hypothesis generating pilot study.

**HUMAN IMMUNOLOGY 76:(9)**, pp. 667-672. (2015)

Folyóiratcikk/Szaccikk/Tudományos

**IF: 2,127**

Zóka András, Barna Gábor, Somogyi Anikó, Múzes Györgyi, Oláh Ágnes, Al-Aissa Zahra, Hadarits Orsolya, Kiss Katalin, Firneisz Gábor

Extension of the CD4(+) Foxp3(+) CD25(-/low) regulatory T-cell subpopulation in type 1 diabetes mellitus.

**AUTOIMMUNITY 48:(5)**, pp. 289-297. (2015)

Folyóiratcikk/Szaccikk/Tudományos

**IF: 2,917**

Zóka A, Múzes G, Somogyi A, Varga T, Szémán B, Al-Aissa Z, Hadarits O, Firneisz G Altered immune regulation in Type 1 Diabetes.

**CLINICAL AND DEVELOPMENTAL IMMUNOLOGY 2013:** Paper 254874. 17 p. (2013)

Folyóiratcikk/Összefoglaló cikk/Tudományos

**IF: 2,934**

Al-Aissa Z, Nemes-Nagy E, Kirizs R, Kósa B, Jákó Zs, Mareş-Ferencz G, Dobreanu M, Balogh-Sămărghitan V

Cukorbetegek glikált hemoglobin értékei életkor, nem, lakhely, illetve diabetes típusa függvényében

**BULLETIN OF MEDICAL SCIENCES/ ORVOSTUDOMÁNYI ÉRTEŚÍTŐ**  
**82:(4)** pp. 265-267. (2009)

Folyóiratcikk/Rövid közlemény/Tudományos

Nemes-Nagy E, Al-Aissa Z, Kirizs R, Szócs K, Mareş-Ferencz G, Jákó Zs, Dobreanu M, Reid D, Higgins T

Laboratóriumi eljárások a glikozilált hemoglobin meghatározására: összehasonlító elemzés

**BULLETIN OF MEDICAL SCIENCES/ ORVOSTUDOMÁNYI ÉRTEŚÍTŐ**  
**82:(3)** pp. 204-206. (2009)

Folyóiratcikk/Rövid közlemény/Tudományos

Jákó Zs, Nemes-Nagy E, Szabó KD, Szabó A, Balogh A, Baki L- B, Al-Aissa Z, Kósa B, Balogh-Sămărghitan V, Fazakas Z

Aszkorbinsav meghatározása gyümölcs- és zöldséglevékből, valamint a C-vitamin koncentráció dinamikája az anyatejben

**BULLETIN OF MEDICAL SCIENCES/ ORVOSTUDOMÁNYI ÉRTEŚÍTŐ**  
**81:(1)** pp. 52-53. (2008)

Folyóiratcikk/Rövid közlemény/Tudományos

Nemes-Nagy E, Al-Aissa Z, Jákó Zs, Kósa B, Dobreanu M, Reid D, Higgins T

Hemoglobinopátiák kórismézése magas nyomású folyadékkromatográfiás eljárással

**BULLETIN OF MEDICAL SCIENCES/ ORVOSTUDOMÁNYI ÉRTEŚÍTŐ** **81:(1)** pp. 49-51.  
(2008)

Folyóiratcikk/Rövid közlemény/Tudományos

Szőcs-Molnár T, Nemes-Nagy E, Gyenge EO, Kósa B, Al-Aissa Z, Jákó Zs, Kovács E, Mareş-Ferencz G, Szabó M, Balogh-Sămărghiţan, Hobai Ş

Stratificarea riscului cardiovascular la pacienţii cu diabet zaharat de tip 2 în corelaţie cu modul de viaţă şi cu parametrii de laborator

**REVISTA ROMANA DE MEDICINA DE LABORATOR 9:(4) pp. 25-31. (2007)**

Folyóiratcikk/Szaccikk/Tudományos

**Összesített impaktfaktor: 21,096**

## **11. Köszönetnyilvánítás**

Köszönöm Dr. Firneisz Gábor témavezetőmnek a rendkívül precíz és részletes szakmai iránymutatást, valamint, hogy elkötelezettségével, kitartásával hozzájárult dolgozatom teljessé tételéhez és javaslataival, tanácsaival segítette munkám. Továbbá szeretném megköszönni, hogy lehetőséget biztosított az EFSD New Horizons nemzetközi vizsgálatban való részvételre.

Köszönöm Dr. Somogyi Anikó Professzorasszonynak, hogy a Diabetológia és Anyagcsere Munkacsoport tagjává válhattam és az általa vezetett „A diabetes mellitus és szövődményeinek, valamint a májbetegségek etiológiai és genetikai tényezőinek vizsgálata” doktori program keretében folytathattam kutatómunkát. Köszönöm a Professzorasszony végtelen türelmét, töretlen biztatását és magas színvonalú szakmai támogatását.

Köszönöm Dr. Rosta Klára doktornőnek a cikkek megírásában nyújtott szakmailag kimagasló és önzetlen segítségét.

Szeretném megköszönni Dr. Hadarits Orsolya kolleganőmnek, hogy közös munkánk során kitartóan hozzájárult a mintaelemszám bővítéséhez és az adatbázis tökéletesítéséhez.

Köszönöm Herold Magdolnának a minták laboratóriumi előkészítésében nyújtott hasznos tanácsait és útmutatását.

Köszönöm dr. Orbán Vince, dr. Orbán Orsolya és dr. Várhegyi Vera, egykori TDK hallgatóknak az adminisztratív munkák elvégzésében nyújtott önzetlen segítségüket.

Köszönöm Dr. Rácz Károly Professzor Úrnak, Dr. Tóth Miklós és Dr. Igaz Péter klinikaigazgatóknak, hogy lehetővé tették a részvételt a Semmelweis Egyetem II. Belgyógyászati Klinikáján folyó kutatómunkában.