

# Klinikai és patofiziológiai vizsgálatok gestatiós diabetesben

Doktori tézisek

**Dr. Garamvölgyi Zoltán**

Semmelweis Egyetem  
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Molvarec Attila, az MTA doktora, egyetemi docens

Hivatalos bírálók: Dr. Hosszúfalusi Nóra Ph.D., egyetemi docens  
Dr. Altorjay Ábel Tamás Ph.D., klinikai orvos

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Tóth Miklós, az MTA doktora,  
egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Gyarmati Béla Ph.D., egyetemi docens  
Dr. Reismann Péter Ph.D., egyetemi adjunktus

Budapest  
2019

## Bevezetés

A gestatiós diabetes mellitus az egyik leggyakrabban előforduló terhességi kórkép. A fertilis korú nők terhesség előtti túlsúlya, elhízása, mind későbbi életkorban vállalt terhessége következtében gyakorisága világszerte növekedést mutat. Multifaktoriális kóreredetre utal, hogy a gestatiós diabeteses terhesek közel 10 %-ánál autoimmun folyamat igazolható. A diabetes mellitus osztályozása napjainkban etiológiai szempont szerint történik. A legújabb ajánlás a hasnyálmirigy  $\beta$ -sejttömeg és -funkció károsodását helyezi az osztályozás központjába. A  $\beta$ -sejt tömegére és funkciójára hatással lehet a genetika, a környezeti tényezők, az inzulinrezisztencia, a gyulladás és az immunrendszer zavara. A hyperglykaemia kialakulásában szerepet játszó tényező a zsírszövet, az alacsony fokozatú idült gyulladás, és az oxidatív stressz. A végső közös nevezőhöz, azaz a hyperglykaemiához vezető útvonalak a mind idősebb életkorban vállalt terhesség miatt már aktivált állapotban lehetnek.

Az emryonális hasnyálmirigy a 11. héttől kezd inzulint elválasztani. A 13. terhességi héttől a terminusig a magzatvíz inzulinkoncentráció növekedése figyelhető meg. Az inzulin molekula mérete és súlya miatt nem tud átjutni a placentán, ezért a magzatvíz inzulin szintje kizárólag a magzati hasnyálmirigy inzulin elválasztásától függ. A magzati hyperinsulinaemia, az anyai praegestatiós testsúly és az újszülöttkori macrosomia között szoros összefüggés áll fenn. Valószínű, hogy a 24-28. hét között diagnosztizált gestatiós diabetes előtt már a koraterhességben fennálló subklinikus anyai hyperglykaemia az egyik oka a magzati felgyorsult inzulinszekréciónak.

A hasnyálmirigy  $\beta$ -sejteket a terhesség során adaptív válaszként fokozódó inzulinszekréció sebezhetővé teszi. Az intracelluláris glutation és NADPH-szint csökkenésének következtében az oxidatív stressz elleni védelem sérül, és a szabadgyök képződés fokozódik. Az oxidatív károsodás a prooxidáns és antioxidáns egyensúlyzavar következménye. A szabadgyökök miatt a telítetlen zsírsavak oldalláncai, a membránfehérjék és a lipoproteinek károsodnak. Hyperglykaemia miatt a sejtekben a stressz proteinek (chaperonok) ősi sejtszinten működő védekező rendszere, génjeik átírása sérül, a sejtfehérjék védelme csökken. Gestatiós diabetes után évekkel praediabetes, és diabetes megjelenésével kell számolni.

A szelén esszenciális nyomelem, melynek jelentős szerepe van számos antioxidáns enzim megfelelő működésében. A szelén emberi szervezetben betöltött szerepének egyértelmű megítélését nehezíti, hogy a magas szérumszelénkoncentráció nemre, életkorra, és testtömeg-indexre illesztve is pozitív összefüggést mutat a 2-es típusú diabétesz előfordulási gyakoriságával, bár az összefüggés nem lineáris.

A C-reaktív protein (CRP) akut fázis fehérje, főként máj-, és zsírsejtek termelik gyulladáscitokinek, elsősorban IL-6 hatására. Nagy érzékenységgű CRP (hs-CRP: high sensitivity CRP) olyan módszert jelent, amellyel a CRP szint kisebb koncentrációban is biztonsággal mérhető a hagyományos assay-khez képest, így a szubklinikus, illetve krónikus gyulladáscitokinek is kimutathatóak. A CRP mind az inzulinrezisztencia, mind a 2-es típusú diabetes patomechanizmusában fontos szerepet tölt be.

Az emberi test egyik legfontosabb antioxidáns enzime a szelénfüggő glutationperoxidáz (GPX), melynek aktivitása az oxidatív stressz mértékétől függ. A GPX biokémiai funkciója a keletkezett lipid hidroperoxidok alkoholokká, valamint a szabad hidrogén-peroxid vízzé alakítása. A glutationperoxidáz enzim aktivitását jelentősen befolyásolja a szervezet szelén ellátottsága, és az oxidatív stressz foka.

A hősokk fehérjék mindenhol előforduló, filogenetikusan konzerválódott molekulák, ami a funkcionális jelentőségüket is jelzi. Általában intracelluláris fehérjeként ismertek, molekuláris chaperon és citoprotektív funkcióval rendelkeznek. A 70 kDa molekulatömegű hősokk fehérje (Hsp70, HSPA1A) egészséges terhes és nem terhes nők perifériás keringésében is megtalálható. Már kimutatták, hogy a Hsp70 szint egészséges terhesek szérumában szignifikáns mértékben alacsonyabb, mint az egészséges, de nem terhes nőknél. A Hsp70 szérumszint a terhességi kórral pozitív korrelációban áll. Az extracelluláris Hsp70 veleszületett és adaptív proinflammatorikus (Th1 típusú) immunválaszt segítő hatása kóros irányban befolyásolhatja a terhesség alatti immuntoleranciát, spontán vetélést, illetve koraszülést okozva. A keringő Hsp70 csökkent koncentrációja erősíti és fenntartja a terhesség alatt elengedhetetlen immuntoleranciát. Koraszülés, praeclampsia, HELLP-szindróma, és diabetes mellitus esetén a hősokk protein 70 emelkedett szérumszintjét mutatták ki.

## Céltűzések

1. Vizsgálatunkban arra kerestük a választ, hogy az anyai életkor, a praegestációs testtömeg-index, a paritás, az egyéni és családi anamnézisben előforduló szénhidrátanyagcsere-zavar milyen mértékben befolyásolja a gestációs diabetes gyakoriságát a hazai terhespopulációban.
2. Korábbi tanulmányok szerint a magzati inzulintermelés összetett szabályozás alatt áll. Az anyai vércukorszint magzati inzulinszekréciót fokozó hatása mellett felvetődött a fetális hyperinsulinaemia anyai szénhidrátanyagcserét befolyásoló hatása is. Céltűzésünk volt a magzati hyperinsulinaemiát jelző magzatvíz inzulin szintek meghatározása a második trimeszterben. Szerettük volna megválaszolni, hogy a második trimeszter elején észlelt emelkedett magzatvíz inzulinkoncentráció korai jelzője-e az első trimeszterben már valószínűleg jelenlévő anyai szubklinikus hyperglykaemiának. A magzatvíz inzulinkoncentráció és az anyai életkor, valamint praegestációs testtömeg-index kapcsolatát is vizsgáltuk.
3. Tanulmányunk alapján szerettük volna megválaszolni, hogy a praegestációs diabeteses várandósoknál igazolt emelkedett alacsony fokú gyulladás, mint a szénhidrátanyagcsere-zavar kialakulásában szerepet játszó, valamint a betegség következményeként is fokozottan jelenlévő tényező kimutatható-e a gestációs diabetes felismerésének időpontjában. Kerestük a választ arra vonatkozóan is, hogy a pro-, és antioxidáns egyensúly változása fiziológiás terhesség során is kimutatható-e? Magyarországon elsőként határoztuk meg a terhespopuláció szérumszelénkoncentrációját. Az anti-inflammatorikus szeléntartalmú vegyületek részét képező szérumszelén szint, és a prooxidáns hsCRP koncentráció meghatározását, a közöttük feltételezett kapcsolat feltárását végeztük normális és gestációs diabetes szövődményes terhesség második trimeszterében. Célként tűztük ki az antioxidáns szelénfüggő glutation-peroxidáz aktivitás vizsgálatát a terhesség során, valamint a feltételezett GPX aktivitás csökkenés igazolását a gestációs diabetes kialakulásának korai szakaszában.

4. Feladatunknak tekintettük az inzulinhatást mérséklő szérumban lipoprotein koncentráció, valamint a szubklinikus gyulladást jelző hsCRP szint emelkedése, és az általuk kifejezett fokozott lipidperoxidáció jelenlétének vizsgálatát egészséges és terhességi cukorbeteg várandósok körében. Kutatásunk során arra kerestük a választ, hogy a második trimeszterben jelenlévő anyai lipidperoxidáció az éhomi, vagy a terhelést követő postprandiális vénás plazma vércukorszinttel mutat-e összefüggést, illetve az anyai lipidperoxidáció foka összefüggésben áll-e az anyai gestációs hyperglykaemia mértékével?
  
5. A hősokk 70 protein, illetve chaperon fokozott extracelluláris jelenléte kutatások alapján az inzulinrezisztencia mértékével, és az inzulinérzékenység csökkenésével mutat összefüggést nem terhes egyénnél. Korábban eddig nem vizsgálták a keringő szabad Hsp70 hősokk fehérje szintjét gestációs diabetes esetén. Tanulmányunkban praegestációs diabeteses terhes, gestációs diabeteses és egészséges terhes nők szérumban Hsp70 koncentrációjának meghatározását tűztük ki célul. Kerestük az összefüggést a szénhidrátanyagcsere más paramétere és a Hsp70 hősokk fehérje szint között.

## **Beteganyag és módszerek**

### **A tanulmány résztvevői**

#### **A gestatiós diabetes kialakulását valószínűsítő kockázati tényezők vizsgálata**

A Semmelweis Egyetem I. Számú Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikáján 2000. november 1. és 2003. január 30. között 2521 terhes nő körében végeztünk 75 grammos 2 órás OGTT szűrést a WHO ajánlása szerint. Általános szűrővizsgálat a terhesség 24. és 28. hete között történt, ismert rizikótényező esetén az első trimeszterben. A figyelembe vett kockázati tényezők közül az anyai életkor ( $\geq 25$  év), a terhesség előtti testtömeg index ( $BMI > 25 \text{ kg/m}^2$ ), a családban (szülők és/vagy testvérek között) előforduló cukorbetegség és a terhelő szülészeti anamnézis előfordulási gyakoriságát vizsgáltuk az összes terhesség esetén. Multiparák esetén a fentieken kívül még az előző terhesség során fellépő GDM, valamint korábbi terhesség esetén előforduló macrosom újszülött ( $\geq 4000\text{g}$ ) szerepét is tanulmányoztuk. A terheseket két csoportra osztottuk: amennyiben a terhes nő esetében a fenti kockázati tényezők közül legalább egy jelen volt, magas rizikójúnak tekintettük a gravidát, ebbe a csoportba 2138 terhes tartozott, amennyiben egy rizikótényező sem volt jelen, alacsony rizikójú csoportba soroltuk ( $n=383$ ). A rizikótényezők előfordulásáról a cukorterheléssel egyidőben kitöltött kérdőívekből nyertünk információt. Kizáró kritériumok a következők voltak: terhesség előtt ismert diabetes mellitus, többes terhesség, fejlődési rendellenesség, vagy hiányosan kitöltött kérdőív.

#### **A terhesség második trimeszterében mért magzatvíz inzulinkoncentráció vizsgálata**

A Semmelweis Egyetem I. Számú Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikáján 2004. január 5. és március 12. között válogatás nélkül, egymást követő 274 terhes nő esetében határoztuk meg a magzatvíz inzulintartalmát. A gravidáknál karyotypizálás céljából genetikai javallat alapján amniocentesis történt a 16-23. terhességi hét között. A magzatvíz mintavétel javallata az előrehaladott anyai életkor, az ultrahangvizsgálat során észlelt minor anomália vagy terhelő genetikai anamnézis volt. A vizsgálatból kizáró ok volt a kóros karyotypussal szövődött terhesség, az ikerterhesség, a genetikai magzatvíz-mintavételt követő 4 héten belül történt spontán vetélés, a véres magzatvízminta, a megszületéskor észlelt magzati fejlődési rendellenesség.

### **Szérum szelén és hsCRP koncentrációk meghatározása a második trimeszterben**

A tanulmányban 20 egészséges nem terhes, 20 egészséges terhes és 20 gestatiós diabeteses nőt vizsgáltunk a Semmelweis Egyetem I. Számú Szülészeti- és Nőgyógyászati Klinikán 2004. januártól 2004. decemberig. A vérvételre a 24. és 28. terhességi hét között a WHO ajánlása szerint végzett OGTT időpontjában került sor. Kizártunk minden olyan résztvevőt, aki hat héttel a vizsgálat előtt vitaminpótlásban részesült, vagy táplálék kiegészítőt fogyasztott és krónikus megbetegedés miatt volt gondozott. Az egészséges kontroll és terhes nők kiválasztása random módon történt. A tanulmányban résztvevők előzményében diabetes mellitus, magas vérnyomás, vese-, illetve máj megbetegedés nem fordult elő.

### **Glutation-peroxidáz aktivitás meghatározása a második trimeszterben**

Az I. Számú Szülészeti- és Nőgyógyászati Klinikán 2007-2008. között 31 gestatiós diabeteses, és 20 egészséges, kontroll várandós vizsgálatát végeztük. A vérvételre 12 órás éhezést követően éhgyomorral, a 24-28. terhességi hét között a WHO-szerint végzett OGTT időpontjában került sor. A vizsgálatból kizártuk azt a terhest, aki a vérvétel előtt minimum 6 héttel vitamin. szelén tartalmú készítményt, vagy étrendkiegészítőt fogyasztott, illetve bármilyen krónikus betegség miatt gyógyszeres kezelésben részesült. Vizsgálatunkban gestatiós diabeteses és kontroll terhesek összglutation-peroxidáz aktivitását mértük a plazmában, a vörösvértest és teljes vér 1:9 haemolizátumban.

### **Szérum hősokk protein 70 (HSPA1A, Hsp70) szint meghatározása a terhesség második trimeszterében**

Eset-kontroll tanulmányunkban 2004. január és 2006. január között a Semmelweis Egyetem I. Számú Szülészeti- és Nőgyógyászati Klinikán 11 praegestatiós diabeteses terhest, 38 gestatiós diabetes miatt gondozott és 40 egészséges terhes nőt vizsgáltunk. Kontrollnak az egészséges terhesnőt tekintettük. Mindegyik résztvevő a kaukázusi népcsoportba tartozott, és Magyarország azonos földrajzi területéről származott.

A tanulmányunk során a Hsp70 hősokk fehérje szupercsalád leggyakrabban előforduló képviselőjét vizsgáltuk. A mintavétel éhgyomorra történt, egyik résztvevőnél sem igazoltunk fájástevékenységet, vagy magzatvízszivárgást. A meghatározás a WHO-szerint végzett 75 grammos OGTT kivitelezésével egyidőben történt. A vérvétel a glükózterhelés előtt közvetlenül, és azt követően 120 perccel történt. Az egészséges kontroll terhescsoport mindegyik tagjánál normál szénhidrátanyagcsere igazolódott. A praegestatiós diabetes miatt gondozottak minden tagja a vizsgálat időpontjában inzulinkezelésben részesült.

## Laboratóriumi módszerek

A 0. és 120. percben levett vénás vérből végeztünk vércukorszint meghatározást glükóz oxidáz eljárással (Dialab, Austria). GDM-et akkor diagnosztizáltunk, ha a 120 perces vércukorérték elérte vagy meghaladta a 7,8 mmol/l-t.

A magzatvíz inzulinkoncentráció meghatározását Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA) módszerrel, Abbot IMX készülékkel és reagens kittel végeztük.

A szérum szelén és hsCRP meghatározásához 12 órás éhezést követően cubitális vénából 10 ml vért gyűjtöttünk. a 24. és 28. terhességi hét között a WHO ajánlása szerint végzett OGTT időpontjában. A vért fém és antikoaguláns mentes üvegbe gyűjtöttük, majd az alvadást követően 10 percig 2400 percenkénti fordulaton centrifugáltuk. A szérumot fémentes műanyagcsőben -80 C fokra hűtve tároltuk. A rutin laboratóriumi vizsgálatokat Hitachi 917 gépen végeztük. A hsCRP meghatározása immunturbidimetriával történt. A szelénkoncentráció meghatározás első lépése a nitrítssav, perklorátsav és szulfátsav segítségével történt emésztés, majd a szelén VI szelén IV-é történő redukciója hidrokloridsav segítségével. A szérum szelénkoncentráció meghatározása ezt követően hidrid generációs atomabszorpciós spektrometriával történt (Solaar M5 AA Spektrométer, Thermo Elemental). A humán referencia szérum analízisével lett az analitikai módszer verifikálva (Seronom Trace Elements Serum L-1, Ref: 201405, LOT: JL4409). A referencia minta eredménye megegyezett a certifikált és elfogadott szelénkoncentráció tartománnyal.

Az összglutation-peroxidáz aktivitását a plazmában, a vörösvértest és teljes vér 1:9 haemolizátumban mértük. A vérvétel cubitális vénából 12 órás éhezést követően éhgyomorral történt. A GPX aktivitást végpontos direkt assay-vel határoztuk meg redukált glutation és kumul-hidroperoxid ko-szubsztrátok jelenlétében. A glutation-peroxidáz aktivitást egységben (U) adtuk meg. Egy egység (U) egy gramm proteinre jutó 1 nmol redukált glutation oxidációját jelenti -1 és +25 °C közötti hőmérsékleten.

Hsp70 szérum szint meghatározásához a vérmintát alkari vénából natív csőbe vettük hozzáadott adalékanyag nélkül, majd szobahőmérsékleten 10 percig 3000 g-vel centrifugáltuk. Az alikvotokat felhasználásig -80 Celsius fokon tároltuk. A HbA1c meghatározása EDTA-antikoagulánst tartalmazó csövekbe levett teljes vérből történt. Az egészséges terhesek és a gestációs diabeteses betegek vérvétele az OGTT kivitelezésével egyidőben, a 0. percben éhgyomornál történt. A 70 kDa molekulatömegű hősokkfehérje (Hsp70, HSPA1A) szérumkoncentráció meghatározása ELISA Kit (R&D Systems, DYC1663E, Minneapolis, Minnesota, USA) segítségével történt.



## Statisztikai analízis

Az adatok kiértékeléséhez statisztikai módszerként  $\chi^2$  analízist alkalmaztunk, melyhez az EpiInfo 2000 programot vettük igénybe. A  $p < 0,05$  értéket tekintettük szignifikánsnak 95%-os konfidencia intervallum (CI) mellett. Kórosnak az átlag  $\pm 2$  SD értéknél (3,5 U/ml) nagyobb magzatvíz inzulinkoncentrációt tekintettük. Negatív OGTT eredmény mellett észlelhető magzatvíz inzulinkoncentráció 90 percentilis értékét is meghatároztuk, melynél magasabb magzatvíz inzulinszintet szintén kórosnak tekintettük. A statisztikai számításokat Mantel-Hanszel 2-próbával és regressziós analízissel végeztük.

Szérum szelén és hsCRP koncentrációk kiértékelésénél a statisztikai analízis a Statsoft Statistica 6.1 software felhasználásával, ANOVA és Mann-Whitney U-teszttel, valamint korrelációanalízis alkalmazásával történt. A statisztikai értékelést Wilcoxon-próba és logisztikus regresszió segítségével végeztük.

A glutation-peroxidáz aktivitás adatainak elemzéséhez a statisztikai értékelés MS Excel 7.0 programcsomag segítségével történt.

A Hsp70 szérumkoncentrációk kiértékelésénél a folyamatos változók eloszlását Shapiro-Wilk-féle W-teszttel határoztuk meg. Tekintettel arra, hogy azok nem mutattak normális eloszlást, nem-paraméteres statisztikai módszereket alkalmaztunk. Két csoport folyamatos változóinak összehasonlítását Mann-Whitney-féle U-teszttel végeztük. Az összetett csoportok kategorikus változóinak összefüggését Kruskal-Wallis-próbával vizsgáltuk. A csoportok átlag rangszámának többszörös összevetésére varianciaanalízis statisztikai módszert alkalmaztunk. A korrelációs koefficiens számításához Spearman-féle rangkorrelációt végeztünk. Mivel a szérum Hsp70 értékek nem mutattak normális eloszlást, a kovariancia analízist (ANCOVA) logaritmusosan transzformált adatokkal végeztük. A statisztikai analízishez az alábbi szoftvereket alkalmaztuk: STATISTICA (12. verzió, StatSoft Inc., Tulsa, Oklahoma, USA) és Statistical Package for the Social Sciences (version 22 for Windows; SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). Az értekezésben az adatokat folyamatos változók esetében medián (interkvartilis tartomány), a kategorikus változók esetében abszolút szám (százalék) formájában adtuk meg. Minden statisztikai analízisnél a  $p < 0,05$  értéket vettük statisztikailag szignifikánsnak. A vizsgálati protokollt a Semmelweis Egyetem Regionális és Intézményi Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága hagyta jóvá, minden vizsgálati alany írásos beleegyező nyilatkozatot írt alá. A tanulmányt a Helsink Deklarációban foglaltaknak megfelelően végeztük.

## Eredmények

### A gestatiós diabetes kialakulását valószínűsítő kockázati tényezők vizsgálata

A GDM incidenciája az összes terhes körében 9,26%, a magas rizikójú csoportban 9,78%, az alacsony rizikójú csoportban 5,21% volt. Az anyai túlsúly (odds ratio, OR: 1,66, 95 %-os konfidencia intervallum, CI: 1,25-2,22,  $p < 0,0003$ ), a 25 év feletti anyai életkor (odds ratio, OR: 2,26, 95 %-os konfidencia intervallum, CI: 1,43-3,6,  $p < 0,0002$ ), és az előző terhesség során fennállt GDM (odds ratio, OR: 2,16, 95 %-os konfidencia intervallum, CI: 1,28-3,64,  $p < 0,0018$ ) növelte szignifikánsan a gestatiós diabetes kockázatát.

A 25 évnél fiatalabb várandósok 5,69 %-nál (23/404) fordult elő terhességi cukorbetegség, azonban ebben a terhescsoportban mindössze egy esetben észleltünk rizikófaktort, 25 kg/m<sup>2</sup> feletti terhesség előtti BMI értéket. Huszonöt év feletti várandósok 12%-a szövődött terhességi cukorbetegséggel (254/2117, 12,0%). Ebben a csoportban az emelkedett testtömeg index (OR: 1,79,  $p < 0,000064$ ), az előző terhesség során fellépő cukorbetegség (OR: 2,06,  $p < 0,003$ ), és a családban előforduló diabetes (OR: 2,2,  $p < 0,001$ ) bizonyult a legerősebb kockázati tényezőnek. Az anyai életkor előrehaladtával jelentősen emelkedett a GDM gyakorisága: 30 évnél fiatalabbak esetén 7,9 %-nak, míg 40 év feletti anyai életkor fennállásakor 29,16 %-nak adódott a gestatiós diabetes előfordulása.

Amennyiben 25 kg/m<sup>2</sup> feletti BMI szerint vizsgáltuk a terhes nőket, akkor a 25 év feletti anyai életkor (OR: 13,69,  $p < 0,00083$ ), a családban előforduló cukorbetegség (OR: 2,81,  $p < 0,004$ ) és az előző terhesség során fellépő GDM (OR: 2,81,  $p < 0,01$ ) mutatta a legmagasabb esélyhányadost. Abban az esetben, ha 25 kg/m<sup>2</sup> alatt volt a BMI értéke, akkor csak az anyai életkor (OR: 1,69,  $p < 0,02$ ) befolyásolta szignifikánsan a GDM előfordulását.

### A terhesség második trimeszterében mért magzatvíz inzulinkoncentráció és a gestatiós diabetes kapcsolata

Kóros magzatvíz inzulinkoncentrációt (átlag + 2 SD feletti szint) a vizsgált várandósok 4,56 %-ánál (12/263) észleltünk. Magzatvíz hyperinsulinaemiával társult terhességek 41,6 %-ánál a második trimeszter során gestatiós diabetes igazolódott. Normális magzatvíz inzulinkoncentrációval rendelkező terhes nő közül mindössze 8 %-ban (20/251) tapasztaltunk kóros OGTT eredményt. A különbség statisztikailag szignifikáns volt ( $p < 0,001$ , RR: 5,23, 95

% CI 2,37-11,53). Kóros magzatvíz inzulin szint esetén 2/12 (16,6 %), míg normális magzatvíz inzulinkoncentráció esetén 23/251 (9,2 %) arányban fordult elő anyai elhízást jelző terhesség előtti magas BMI érték ( $BMI > 30 \text{ kg/m}^2$ ).

A kóros magzatvíz inzulinkoncentrációt mutató várandós nők kétharmada (8/12, 66,6 %), míg a normál tartományban levő magzatvíz inzulinkoncentrációval rendelkezők kevesebb, mint fele (117/251, 46,6 %) volt 35 évnél idősebb terhes.

A magzatvíz kóros határértéke (átlag + 2SD: 3,5 U/ml) 20 %-os szenzitivitással, 97 %-os specificitással, 42 %-os pozitív prediktív értékkel és 92 %-os negatív prediktív értékkel jelezte a gestációs diabetest. A magzatvíz inzulintartalma és az OGTT vizsgálat két óras vércukorértéke között szignifikáns lineáris összefüggés volt kimutatható, azonban a korrelációs együttható értéke alacsonynak adódott ( $p < 0,002$ ,  $r = 0,189$ ).

Előzményben szereplő kettő vagy több macrosom újszülött születése esetén minden második terhesnő graviditásánál magzati hyperinsulinaemiát tapasztaltunk. A terhességi korhoz igazítva magasabb magzatvíz inzulinkoncentráció esetén gyakrabban tapasztaltuk nagyobb súlyú újszülött születését.

### **Szérum szelén és hsCRP szintek vizsgálata a második trimeszterben egészséges nem terhes, egészséges terhes, és gestációs diabeteses nőkben**

Az életkorban és BMI-ben egymáshoz illesztett kontroll terhes és GDM csoportban a szüléskori terhességi kor és a magzati születési súly nem mutatott szignifikáns különbséget. A nem terhes egészséges nők szérum szelénkoncentrációja (átlag $\pm$ SD 77,4 $\pm$ 14,82  $\mu\text{g/l}$ ,  $p < 0,001$ ) szignifikáns mértékben magasabbnak bizonyult, mint az egészséges várandós nőknél (40,5 $\pm$ 8,03  $\mu\text{g/l}$ ) és gestációs diabeteseseknél (51,7 $\pm$ 11,62  $\mu\text{g/l}$ ) mért átlag szelénkoncentráció. Gestációs diabeteses terhesekben szignifikánsan magasabb volt a szérum szelénkoncentráció a kontroll terhesekhez viszonyítva ( $p < 0,001$ ). A szelénkoncentráció szignifikáns pozitív kapcsolatot mutatott a gestációs diabetes megjelenésével.

A szérum szelén szint és az éhomi plazma glükózkoncentráció között a gestációs diabeteses csoportban szignifikáns fordított összefüggést igazoltunk ( $p = 0,802$ ).

Mindkét terhescsoportban szignifikánsan nagyobbak ( $p < 0,01$ ) bizonyult a fokozott lipidperoxidációt jelző hsCRP érték az egészséges, nem terhes nőknél mért értékhez képest. Vizsgálatunkban nem találtunk szignifikáns különbséget a gestációs diabeteses és kontroll

terhesek hsCRP értéke között. Megállapítottuk ugyanakkor, hogy gestatiós diabetes esetén gyakrabban fordult elő emelkedett hsCRP érték.

Tanulmányunkban a hsCRP szint és az éhomi TG ( $p<0,01$ ), valamint az összkoleszterin szérum koncentráció ( $p<0,05$ ) között pozitív korreláció igazolódott, az összefüggés szignifikáns. A hsCRP értékek szignifikáns mértékben korreláltak az OGTT 2 órás szérum glükóz koncentrációjával ( $p<0,01$ ).

A szérum szelénkoncentrációk szoros negatív korrelációt ( $p<0,001$ ) mutattak a szérum összkoleszterin, szérum LDL-koleszterin, és szérum triglicerid koncentrációkkal. A szérum szelén szint, és az alacsony fokú gyulladást, illetve lipidperoxidációt jelző hsCRP szint között szignifikáns mértékű fordított korrelációt igazoltunk (regressziós együttható:  $-0,49$ ,  $p<0,001$ ).

### **Glutation-peroxidáz aktivitás egészséges terhes nőkben és gestatiós diabetesben a terhesség második trimeszterében**

Az életkorban és BMI-ben egymáshoz illesztett gestatiós diabeteses betegek és kontroll terhesek plazma és vörösvértest haemolizátum glutation-peroxidáz aktivitása között nem találtunk szignifikáns eltérést ( $3,30\pm 0,95$  vs.  $2,84\pm 0,60$  U/g fehérje és  $6,78\pm 2,23$  vs.  $5,92\pm 0,67$  U/g fehérje). Teljes vér haemolizátum glutation-peroxidáz aktivitása szignifikáns mértékben alacsonyabb volt ( $p=0,035$ ) gestatiós diabeteses nőknél a kontroll terhesekhez képest ( $2,03\pm 0,61$  U/g fehérje vs.  $2,77\pm 0,70$  U/g fehérje). A plazmában mért GPX aktivitás nem különbözött szignifikánsan a gestatiós diabeteses és kontroll terhesek között, annak ellenére, hogy GDM jelenléte esetén gyakrabban mértünk magasabb GPX aktivitást. A szérum szelénkoncentráció és a plazma glutation-peroxidáz aktivitás az egészséges terheseknél a terhességi cukorbetegséghez képest szignifikáns összefüggést mutatott ( $p=0,005$ ). A szelén-dependens plazma glutation-peroxidáz aktivitás és a szelén szint között a GDM csoportban gyenge pozitív (NS) korreláció igazolódott ( $p=0,92$ ).

## **Hősokk protein 70 szintek gestatiós diabeteses nőknél, valamint praegestatiós diabeteses és kontroll terheseknél a második trimeszterben**

A Hsp70 fehérje szérumszintek szignifikánsan magasabbak voltak a praegestatiós (0,39 (0,33-0,45) ng/ml,  $p < 0,001$ ) és a gestatiós diabeteses betegekben (0,28 (0,24-0,35) ng/ml,  $p < 0,05$ ) az egészséges várandósokhoz (0,26 (0,20-0,30) ng/ml) képest. A praegestatiós diabeteses terhesek Hsp70 fehérje szérumkoncentrációi szignifikáns mértékben magasabbnak bizonyultak a gestatiós diabeteses nőknél mért értékekhez képest ( $p < 0,05$ ). A vizsgált terhescsoportoknál a Hsp70 szintek közötti szignifikáns eltérés akkor is fennállt, ha az értékeket az életkor, a vérvételkori terhességi kor, a terhesség előtti BMI érték és a primiparák százalékos aránya szerint illesztettük az ANCOVA kovariancia analízis során (súlyozott átlag  $\pm$  standard hiba (szérum Hsp70 koncentráció (ng/ml):  $-0,63 \pm 0,03$  egészséges terhességnél,  $-0,51 \pm 0,03$  gestatiós diabeteseseknél, és  $-0,42 \pm 0,05$  praegestatiós diabeteses terheseknél;  $p < 0,05$ ). A gestatiós diabeteses csoportban a szérum Hsp70 szintek és a HbA1c értékek szignifikáns pozitív korrelációt mutattak (Spearman  $R=0,37$ ,  $p < 0,05$ ).

## Következtetések

1. A 25 évnél idősebb terheseknél a legerősebb rizikófaktor gestatiós diabetes kialakulására nézve a túlsúly, ezt követi az előzményben szereplő gestatiós diabetes, majd az elsőfokú rokonságban előforduló diabetes mellitus.
2. A 25 évesnél fiatalabb és  $25 \text{ kg/m}^2$ -nél kisebb testtömeg-indexszel rendelkező szülők 5,2 %-nál is gestatiós diabetest igazoltunk, mely egyéb patomechanizmus jelenlétére utal.
3. 40 évnél idősebb szülőknél a gestatiós diabetes előfordulása 29,16 %, ami a 25 évnél fiatalabb szülőkhöz képest közel hatszoros gyakoriságot mutat.
4. Normális és  $25 \text{ kg/m}^2$  feletti praegestatiós BMI-vel rendelkező terhesek esetén egyaránt az anyai életkor a gestatiós diabetes rizikóját fokozó elsődleges tényező.
5. A második trimeszter során a terhesek 4,56 %-nál igazolható kóros magzatvíz inzulinkoncentráció. Adataink alapján normális magzatvíz inzulin szint esetén a gestatiós diabetes előfordulása mindössze 8 %.
6. A második trimeszter közepén igazolt magzati hyperinsulinaemia az esetek 42 %-ban előre jelezte a második trimeszter végi anyai szénhidrátanyagcsere-zavart. Kóros magzatvíz inzulinkoncentráció ellenére normoglykaemiás terhescsoportban további vizsgálat szükséges annak a felderítésére, hogy milyen magzati vagy anyai tényező miatt nem manifesztálódik a gestatiós diabetes. Az egyik lehetséges ok a magzati glükózigény növekedése lehet.
7. Terhesség második trimesztere végén mind az egészséges, mind a gestatiós diabeteses terhesek szérumban szelénkoncentrációja szignifikánsan alacsonyabb egészséges, nem terhes nők szérumban szelénkoncentrációjához képest, mely fokozott felhasználásra utal.
8. A szérumban szelénkoncentráció gestatiós diabetes esetén szignifikánsan magasabb normális szénhidrátanyagcserejű terhesek szelénkoncentrációjához képest.

9. A hsCRP negatívan korrelál a szérumban a szelénkoncentrációval.
10. Terhesség második trimesztere során mért hsCRP-szint szignifikánsan magasabb az egészséges, nem terhes nők hsCRP értékéhez képest, ugyanakkor a gestációs diabeteses és a normális szénhidrátanyagcserejű terhesek hsCRP-szintje nem különbözik egymástól szignifikáns mértékben.
11. A terhesség második trimesztere végén a szérumban a szelénkoncentráció szignifikáns mértékű negatív korrelációban áll a totál koleszterin-, az LDL-koleszterin-, a TG- és a hsCRP-szintekkel.
12. Az éhgyomri totál koleszterin-, és TG-szint szignifikáns pozitív korrelációban áll a hsCRP-szinttel.
13. Feltételezzük, hogy a megnőtt lipidperoxidációra utal a terhesség során észlelt csökkent szérumban a szelénkoncentráció.
14. A posztprandiális két órás cukorterhelés érték a második trimeszter végén szignifikáns pozitív összefüggést mutat a lipidperoxidációt kifejező anyai szérumban a hsCRP-szinttel.
15. Teljes vér haemolizátum glutation-peroxidáz aktivitása szignifikánsan alacsonyabb a második trimeszter végén gestációs diabeteses szövőződött terheseknél az egészséges terhesekhez viszonyítva, ami a szénhidrátanyagcsere-zavarral jár, már a 24. terhességi héten fokozottan jelenlévő oxidatív stressz jelenlétére utal.
16. A második trimeszter végén a gestációs diabetes igazolásának pillanatában az egészséges terhesekhez viszonyítva a Hsp70-szint szignifikáns mértékben emelkedett.
17. Gestációs diabetes esetén a szérumban a Hsp70-szint szignifikáns összefüggést mutat a HbA1c koncentrációval. Mindez a krónikus hyperglykaemia által okozott, már a terhesség második trimeszterének végén fennálló fokozott oxidatív stresszre és szisztémás gyulladásra hívja fel a figyelmet. Gestációs diabetesben az oxidatív stressz okozta károsodások megelőzése céljából alapvető fontosságú a szénhidrátanyagcsere gondos rendezése.

18. Prae gestatiós diabétesssel szövődött terheseknél gestatiós diabéteszes terhesekhez képest a második trimeszter végén mért szérúm Hsp70 koncentráció szignifikáns mértékben emelkedett. Az időben fel nem ismert praegestatiós diabétes mellitus már az organogenezis időszakában fokozott oxidatív stresszt és inflammációs környezetet jelent az embryo számára.



## Saját publikációk jegyzéke

### Az értekezés témájában megjelent közlemények

1. **Garamvölgyi Z**, Rigó J, Krasznai I, Hidvégi J, Papp Z. (2004) Perinatal outcomes regarding to the risk factors and the efficacy of the treatment of diabetes. In: Papp Z, Rodeck C (szerk.) Recent Advances in Prenatal Genetic Diagnosis: Collection of works presented at the 12th International Congress on Prenatal Diagnosis and Therapy. Bologna: Medimond Monduzzi Editore, 231: 171-174.
2. **Garamvölgyi Z**, Bóze T, Beke A, Krasznai I, Derzsy Z, Somogyi A, Hidvégi J, Rigó J Jr. (2006) A terhesség második trimeszterében mért magzatvíz inzulinkoncentráció és a gestációs diabetes kapcsolata. MAGYAR NŐORVOSOK LAPJA, 69 (3): 177-181.
3. **Garamvölgyi Z**, Rigó J Jr. (2006) Rizikófaktorok és terhességi cukorbetegség METABOLIZMUS, 4 (2): 104-106.
4. Molnár J, **Garamvölgyi Z**, Adányi N, Wimmer A, Rigó J, Somogyi A. (2006) Serum selenium concentrations of gestational diabetic and healthy pregnant women in Hungary. In: Szilágyi M, Szentmihályi K (szerk.) Trace Elements in the Food Chain. Proceedings of the International Symposium, 534: 21-25.
5. **Garamvölgyi Z**, Rigó J Jr, Bokor A, Dénes J, Hargittay Cs, Krasznai I, Molnár J, Somogyi A. (2007) A gesztációs diabétesz kialakulását valószínűsítő kockázati tényezők vizsgálata hazánkban. METABOLIZMUS, 5 (3): 148-151.
6. Molnár J, **Garamvölgyi Z**, Herold M, Wimmer A, Somogyi A, Rigó J. (2007) Gesztációs diabeteses és kontroll terhesek szérumszelen- és C-reaktív protein koncentrációja a terhesség második trimeszterében. MAGYAR BELORVOSI ARCHIVUM, 60 (2): 144-148.
7. Molnar J, **Garamvölgyi Z**, Herold M, Adanyi N, Somogyi A, Rigo J. (2008) Serum selenium concentrations correlate significantly with inflammatory biomarker high-sensitive CRP levels in hungarian gestational diabetic and healthy pregnant women at mid-pregnancy. BIOLOGICAL TRACE ELEMENT RESEARCH, 121 (1): 16-22. (IF: 1,013)

8. **Garamvölgyi Z**, Horvát-Karajz K, Mézes M, Balogh K, Adányi N, Martos É, Rigó J Jr, Molnár J. (2009) Glutathione peroxidase activity and serum selenium concentrations in gestational diabetic and control pregnant women in Hungary- a follow-up study. In: Szilágyi M, Szentmihályi K (szerk.) Budapest, Magyarország: Working Committee on Trace Elements of the Complex Committee Hungarian Academy of Sciences, 51-55.
9. **Garamvölgyi Z**, Prohászka Z, Rigó J Jr, Kecskeméti A, Molvarec A. (2015) Increased circulating heat shock protein 70 (HSPA1A) levels in gestational diabetes mellitus: a pilot study. *CELL STRESS & CHAPERONES*, 20 (4): 575-581. (IF: 2,583)
10. **Garamvölgyi Z**. (2016) A terhességi cukorbetegség immunológiája. In: Fülöp Vilmos (szerk.) Az immunológia időszerű kérdései a humánreprodukcióban 2. Miskolc-Egyetemváros: Miskolci Egyetemi Kiadó, 230-241.

#### **Az értekezés témájától független közlemények**

1. Vastagh I, Horváth T, **Garamvölgyi Z**, Rosta K, Folyovich A, Rigó J Jr, Kollai M, Bereczki D, Somogyi A. (2011) Preserved structural and functional characteristics of common carotid artery in properly treated normoglycemic women with gestational diabetes mellitus. *ACTA PHYSIOLOGICA HUNGARICA*, 98 (3): 294-304.  
(IF: 0,821)
2. Beke A, Pikó H, **Garamvölgyi Z**, Karcagi V, Nyíró G, Nagy B, Molnár MJ, Rigó J ifj. (2012) Korai petefészek-kimerülés (POF/POI) és a FRAXA betegség kapcsolatának vizsgálata az FMR1 gén CGG trinukleotid ismétlődés számának meghatározásával. *MAGYAR NŐORVOSOK LAPJA*, 75 (3): 8-13.
3. Hruby E, **Garamvölgyi Z**, Görbe É, Hajdú J, Rigó J (2012) Jr. Incidence and causes of maternal thrombocytopenia in triplet gestation. *JOURNAL OF PERINATAL MEDICINE*, 40 (3): 229-235. (IF: 1,949)
4. Haltrich I, Piko H, Pamjav H, Somogyi A, Volgyi A, David D, Beke A, **Garamvölgyi Z**, Kiss E, Karcagi V, Fekete G. (2015) Complex X chromosome rearrangement associated with multiorgan autoimmunity. *MOLECULAR CYTOGENETICS*, 8 (Paper 51): 11. (IF: 1,506)

**Összegzett impakt faktor: 7,872**