Uniwersytet Jagielloński

Collegium Medicum

Wydział Lekarski

Alicja Borodako

Wskaźniki rozwijającego się uszkodzenia wysp trzustkowych u pacjentek z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych

Praca doktorska

Promotor: prof. zw. dr hab. med. Jacek Sieradzki

Katedra i Klinika Chorób Metabolicznych Uniwersytetu Jagiellońskiegio

Collegium Medicum

Kierownik: prof. zw. dr hab. med. Jacek Sieradzki

Kraków 2007

Mojemu Mężowi i Synom tę pracę dedykuję

Dziękuję

Panu prof. zw. dr. hab. med. Jackowi Sieradzkiemu za inspirację twórczą, motywację do działań, bezcenne wskazówki oraz życzliwość i pomoc na każdym etapie pracy.

Pani dr hab. med. Annie Pituch- Noworolskiej, Ordynatorowi Oddziału Immunologii Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego w Krakowie, za umożliwienie przeprowadzenia oznaczeń przeciwciał przeciwwyspowych w tamtejszej Pracowni oraz niezwykle cenne uwagi w trakcie pisania pracy.

Mojej rodzinie, przyjaciołom, koleżankom i kolegom z Kliniki Chorób Metabolicznych, wszystkim, którzy okazali pomoc i wsparcie, tak potrzebne do realizacji mojej pracy badawczej.

Pacjentkom, które zgodziły się na udział w badaniach naukowych dla celów niniejszej pracy.

Spis treści

1. **Wstęp** 7

1.1. Rys historyczny badań nad cukrzycą ciężarnych 7

1.2. Definicja, klasyfikacja, rozpoznanie i patogeneza cukrzycy ciężarnych..... 8

1.3. Zmiany metabolizmu węglowodanów i lipidów w ciąży 12

1.4. Insulina a zaburzenia gospodarki lipidowej 13

1.5. Autoimmunizacyjna cukrzyca typu 1 14

1.6. Rola przeciwciał przeciw antygenom wysp trzustkowych w rozpoznaniu cukrzycy typu 1 16

1.7. Autoimmunizacyjna cukrzyca ciężarnych i ryzyko rozwoju poporodowej cukrzycy typu 1 20

2. Założenia pracy 24

3. Cele badania 25

4. Materiał i metody 26

5. Wyniki 35

5.1. Charakterystyka badanej grupy 35

5.2. Obecność przeciwciał przeciwko antygenom wysp trzustkowych w badanej populacji kobiet z cukrzycą ciężarnych oraz w grupie pacjentek z wykluczoną cukrzycą ciężarnych..... 38

5.3. Porównanie wybranych cech klinicznych w poszczególnych grupach ciężarnych 45

5.4. Porównanie średnich wartości parametrów gospodarki lipidowej w poszczególnych grupach ciężarnych 49

5.5. Porównanie średnich stężeń parametrów gospodarki węglowodanowej w poszczególnych grupach ciężarnych..... 52

5.6. Porównanie cech klinicznych i biochemicznych u pacjentek z cukrzycą ciężarnych i obecnym jednym typem przeciwciał oraz pacjentek z obecnym więcej niż jednym typem przeciwciał przeciwko antygenom wysp trzustkowych 55
5.7. Ocena niezależnych czynników ryzyka cukrzycy autoimmunizacyjnej w grupie kobiet z cukrzycą ciężarnych 58
5.8. Ocena kliniczna ciężarnych z wykluczoną cukrzycą ciężarnych i obecnymi przeciwciałami przeciwko antygenom wysp trzustkowych 61
5.9. Związek pomiędzy obecnością przeciwciał w grupie z cukrzycą ciężarnych a odsetkiem HbA1c i stężeniem peptydu C 63

6. Dyskusja 65
6.1. Częstość występowania przeciwciał przeciw antygenom wysp trzustkowych u pacjentek z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych 66
6.2. Częstość występowania przeciwciał przeciw antygenom wysp trzustkowych u pacjentek z nieprawidłowym wynikiem testu przesiewowego 68
6.3. Charakterystyka kliniczna pacjentek z autoimmunizacyjną cukrzycą ciężarnych . 70
6.4. Opieka nad pacjentkami zagrożonymi rozwojem cukrzycy typu 1 73

7. Wnioski 76

8. Piśmiennictwo 78

9. Spis rycin i tabel 92

10. Streszczenie 94

Wykaz skrótów

BMI = body mass index, wskaźnik masy ciała

Cholesterol HDL = high density lipoprotein, cholesterol lipoporotein wysokiej gęstości

Cholesterol LDL = low density lipoprotein, cholesterol lipoprotein niskiej gęstości

CTKr = ciśnienie tętnicze krwi rozkurczowe

CTKs = ciśnienie tętnicze krwi skurczowe

FPG = fasting plasma glucose, glikemia na czczo

GADA = glutamic acid decarboxylase autoantibodies, przeciwciała przeciwko dekarboksylazie kwasu glutaminowego

GDM = gestational diabetes mellitus, cukrzyca ciężarnych

GDM (-) = wykluczona cukrzyca ciężarnych

GDM Ab- = cukrzyca ciężarnych bez obecnych przeciwciał

GDM Ab+ = cukrzyca ciężarnych z obecnymi przeciwciałami

HbA1c = hemoglobina glikowana A1c

IA-2A = protein tyrosine phosphatase-related protein 2 molecule, przeciwciała przeciwko fosfatazie tyrozyny białkowej

ICA = islet cell autoantibodies, przeciwciała przeciwwyspowe

IGT = impaired glucose tolerance, nieprawidłowa tolerancja glukozy

OGTT = oral glucose tolerance test, doustny test obciążenia glukozą

TC = total cholesterol, cholesterol całkowity

TG = triglicerydy

TSH = thyroid-stimulating hormone, tyreotropina

Praca finansowana ze środków na naukę w latach 2006- 2007 jako projekt badawczy.

1. Wstęp

1.1. Rys historyczny badań nad cukrzycą ciężarnych

Cukrzyca ciężarnych jest stosunkowo młodym pojęciem [1]. Pierwszych informacji możemy dopatrywać się w publikacji Bennewitza z 1823 roku [2], gdzie opisuje przypadek 22-letniej Frederici Pape, u której rozpoznano cukrzycę w dwu kolejnych ciążach, która ustąpiła po porodzie. Dało to podstawę do sformułowania tezy, iż ciąża jest stanem diabetogennym, wywołującym przejściową hiperglikemię. W tym czasie w dużej części przypadków, z powodu braku objawów klinicznych, dopiero niepomyślny przebieg ciąży lub urodzenie dużego dziecka wskazywał na wystąpienie cukrzycy w ciąży. Niewielki stopień hiperglikemii był również opisywany jako czynnik ryzyka ciąży w pracach z lat 40. XX wieku, gdzie zwrócono uwagę na zwiększoną częstość śmiertelności perinatalnej płodu kilka lat przed klinicznie jawną cukrzycą matki. Ta obserwacja przyczyniła się do wprowadzenia pojęcia stanu przedcukrzycowego (prediabetes) oraz sformuowania koncepcji przejściowej i utajonej cukrzycy. Pierwsze prospektywne badanie zaburzeń węglowodanowych w ciąży przeprowadzono w Bostonie w latach 50. XX wieku, używając obciążenia 50 gramami glukozy jako badania przesiewowego. Pojęcie cukrzycy ciężarnych (GDM) użył po raz pierwszy 0'Sullivan w 1961 roku, opracowując kryteria rozpoznania cukrzycy w ciąży z zastosowaniem doustnego testu obciążenia 100 g glukozy i pomiarem glikemii przez 3 godziny [3]. W 1980 roku grupa ekspertów WHO zaproponowała rozpoznawanie GDM na podstawie standardowego testu z doustnym obciążeniem 75 g glukozy [4].

1.2. Definicja, klasyfikacja, rozpoznanie i patogeneza cukrzycy ciężarnych

Cukrzyca ciężarnych (Gestational Diabetes Mellitus – GDM) to wszelkiego rodzaju zaburzenia gospodarki węglowodanowej rozpoznane lub wykryte podczas ciąży, niezależnie od etiologii, sposobu leczenia oraz obecności lub braku tych zaburzeń po zakończeniu ciąży [5,6,7]. Definicja nie wyklucza możliwości istnienia cukrzycy przed ciążą, która nie została wykryta do czasu wizyty lekarskiej w trakcie ciąży, wyklucza natomiast przypadki cukrzycy rozpoznanej przed ciążą. Cukrzyca należy do najczęstszych zaburzeń metabolicznych wikłających przebieg ciąży. Częstość GDM określa się na 1–14% w zależności od badanej populacji oraz kryteriów rozpoznania cukrzycy. Dla populacji polskiej wynosi około 3% [8]. Patofizjologia GDM oraz wynikające z niej skutki kliniczne stanowią istotne ryzyko powikłań ze strony matki i płodu [6,7,9,10]. Ryzyko to można częściowo zmniejszyć stosując odpowiednie postępowanie profilaktyczno-lecznicze. Zgodnie z zaleceniami Amerykańskiego Towarzystwa Diabetologicznego (ADA) oraz Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), GDM stanowi, obok cukrzycy typu 1, typu 2 oraz grupy innych określonych typów cukrzycy, jedną z czterech głównych postaci klinicznych tej heterogennej jednostki chorobowej [5,7,11].

W klasyfikacji cukrzycy w ciąży opracowanej przez Priscillę White, przyjętej przez Polskie Towarzystwo Diabetologiczne (PTD) wyróżnia się, obok cukrzycy przedciążowej, 2 podtypy cukrzycy ciężarnych: nieprawidłowa tolerancja glukozy z normoglikemią w warunkach przestrzegania diety – G/A lub G1 oraz cukrzyca wymagająca leczenia dietą i insuliną, z uwagi na obecność hiperglikemii na czczo i po posiłku – G/B lub G2 (tabela 1) [6,12].

Tabela 1. Zmodyfikowana klasyfikacja cukrzycy w ciąży wg White (1980, Hare i White) [98]

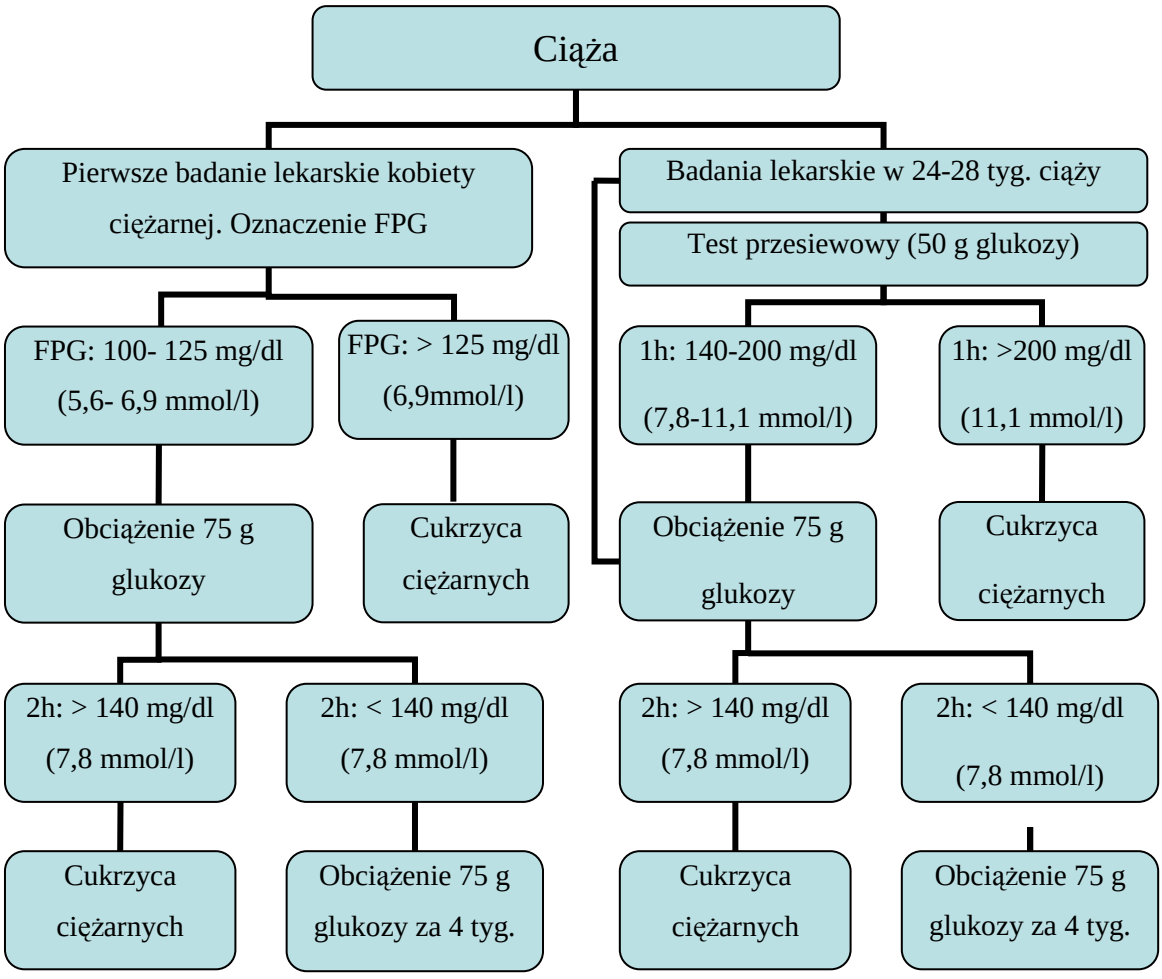
Cukrzyca ciężarnych:	
• G1 (GB)	Nieprawidłowa tolerancja glukozy z normoglikemią w warunkach przestrzegania diety
• G2 (GB)	Hiperglikemia na czczo i poposiłkowa – konieczne leczenie dietą i insuliną
Cukrzyca przedciążowa:	
• Klasa A	Wystarcza leczenie dietetyczne, dowolny czas trwania cukrzycy
• Klasa B	Wystąpienie cukrzycy po 20 rż, i/lub czas trwania cukrzycy do 10 lat
• Klasa C	Wystąpienie cukrzycy między 10. a 19. rż i/lub czas trwania cukrzycy 10-19 lat
• Klasa D	Wystąpienie cukrzycy przed 10. rż i/lub czas trwania cukrzycy >20 lat i/lub obecność retinopatii prostej lub nadciśnienia tętniczego (niezależnie od pre-eklampsji)
• Klasa R	Retinopatia proliferacyjna lub wylewy do ciała szklistego
• Klasa F	Nefropatia z proteinurią>500 mg/dobę
• Klasa RF	Współistnieje kryteriów dla klasy R i F
• Klasa H	Choroba niedokrwienna serca i kardiomiopatia cukrzycowa
• Klasa T	Stan po transplantacji nerek

Istnieje szereg czynników ryzyka cukrzycy ciężarnych – należą do nich wielorództwo, ciąża u kobiet po 35 roku życia, porody dużych dzieci (powyżej 4000 g)

w wywiadzie, urodzenie noworodka z wadą, zgony wewnątrzmaciczne, nadciśnienie tętnicze lub nadwaga przed ciążą (BMI powyżej 27 kg/m2), rodzinny wywiad w kierunku cukrzycy typu 2, rozpoznanie cukrzycy GDM w trakcie trwania poprzednich ciąż. W większości przypadków nietolerancja węglowodanów jest asymptomatyczna i cukrzyca ciężarnych rozpoznawana jest u pacjentek nie zgłaszających objawów, w dobrym stanie zdrowia według własnej oceny. Istotne znaczenie dla pomyślnego ukończenia ciąży jest wczesne rozpoznanie cukrzycy ciężarnych. Przeważa obecnie pogląd, iż rozpoznanie cukrzycy w ciąży powinno być oparte na podstawie testu doustnego obciążenia glukozą wykonanego między 24. a 28. tygodniem ciąży u wszystkich ciężarnych, aczkolwiek istnieje obecnie wiele kontrowersji wokół sposobu i rodzaju testu [13,14,15]. Zmiany metaboliczne zachodzące w ciąży utrudniają opracowanie jednolitych, ogólnie akceptowanych kryteriów rozpoznania cukrzycy w ciąży. Część badaczy uważa, że graniczne wartości glikemii powinny być odmienne dla pacjentek ciężarnych. Tłumaczy się to faktem niższych stężeń glikemii na czczo w ciąży fizjologicznej oraz innej kinetyki zmian poposiłkowych i poobciążeniowych stężeń glikemii [16]. W większości krajów europejskich cukrzycę ciężarnych rozpoznaje się na podstawie doustnego testu obciążenia 75 g glukozy według kryteriów WHO [5], w niektórych krajach (np. USA) na podstawie obciążenia 100 g glukozy i pomiaru glikemii przez 3 godziny [17]. W Polsce obowiązuje obecnie dwuetapowy algorytm w procesie diagnostycznym cukrzycy ciężarnych (Rycina 1). Pierwsze oznaczenie glukozy należy wykonać na początku ciąży, przy pierwszej wizycie u ginekologa w celu wykrycia bezobjawowej cukrzycy przedciążowej. Między 24. a 28. tygodniem u każdej ciężarnej wykonuje się doustny test przesiewowy tolerancji glukozy (50 g) z oznaczeniem glikemii po 1h. Wartości glikemii między 140 a 200 mg/dl (7,8-11,1 mmol/l) należy zweryfikować za pomocą doustnego testu tolerancji glukozy (75g)

w możliwie najkrótszym czasie, z zachowaniem reguł dotyczących testu diagnostycznego [6]. W procesie diagnostycznym można pominąć test przesiewowy. W części ośrodków zaleca się obecnie wprowadzenie jednostopniowego diagnozowania cukrzycy ciężarnych, tj. wykonanie u każdej ciężarnej między 24. a 28. tygodniem ciąży testu diagnostycznego zgodnie z zaleceniami WHO [5].

Rycina 1. Algorytm rozpoznawania cukrzycy ciężarnych wg PTD [12]



U większości chorych (70-80%) po zakończeniu ciąży glikemie normalizują się. Pacjentki te pozostają jednak w grupie ryzyka rozwoju w przyszłości zaburzeń węglowodanowych. Cukrzyca bowiem, ujawniająca się w okresie ciąży to najczęściej rozwijająca się lub obecna cukrzyca typu 2 [18,19,20]. Istnieje jednak grupa około 10-

20% pacjentek, u których cukrzyca ciężarnych (GDM) jest sygnałem obecnej lub rozwijającej się cukrzycy typu 1 [21]. W badaniach Damm i wsp. obejmujących 241 kobiet w ciągu 6 lat po zakończeniu ciąży powikłanej GDM, stwierdzono cukrzycę typu 1 u 3,7 %, cukrzycę typu 2 u 13,7% i IGT u 17% [18]. Mając na uwadze wzrastającą częstość cukrzycy typu 1 i typu 2 na świecie [21] kluczowym celem w przyszłości może się okazać prewencja i wczesna diagnostyka choroby.

1.3. Zmiany metabolizmu węglowodanów i lipidów w ciąży

Wraz z zaawansowaniem ciąży zmienia się metabolizm ciężarnej. Spowodowane jest to koniecznością gromadzenia składników odżywczych od początku ciąży, aby sprostać zwiększonemu zapotrzebowaniu matki i płodu w dalszym etapie ciąży oraz podczas laktacji. W miarę trwania ciąży rośnie tkankowa insulinooporność, co może przyczynić się do ujawnienia cukrzycy lub upośledzonej zdolności wydzielania insuliny. U większości ciężarnych produkcja insuliny jest wystarczająca dla zapewnienia równowagi między insulinoopornością a zapotrzebowaniem na insulinę. W sytuacji, gdy insulinooporność zaczyna przeważać, a produkcja insuliny jest niewystarczająca, pojawia się hiperglikemia. U większości pacjentek ma to miejsce w drugiej połowie ciąży, przy czym insulinooporność ma tendencję wzrostową aż do porodu. W większości przypadków insulinooporność gwałtownie normalizuje się po porodzie. W okresie ciąży dochodzi także do wzrostu produkcji hormonów płciowych, większość z nich wpływa na insulinooporność i zmienia funkcje komórek beta wysp Langerhansa. Na początku ciąży dochodzi do wzrostu produkcji progesteronu (powodującego wzrost insulinooporoności) i estrogenów (działających protekcyjnie), których efekt działania jest zrównoważony [22]. W drugim trymestrze wzrasta poziom kortyzolu, hPL i prolaktyny powodując zmniejszenie fosforylacji IRS-1 (ang. insulin

receptor substrate) i zwiększając insulinooporność [22]. W miarę trwania ciąży dochodzi także do sukcesywnego obniżania się glikemii na czczo, co tłumaczy się zwiększającą się objętością łożyska w pierwszym trymestrze oraz zwiększonym płodowo-łożyskowym zużyciem glukozy w późniejszej ciąży [23]. Ponadto w ciąży zwiększa się wyrównawczo produkcja wątrobowa glukozy na czczo [24,25].

W ciąży fizjologicznej zmienia się również metabolizm lipidów. W badaniach Knoppa i wsp. [26] stwierdzono 2-4–krotny wzrost stężenia triglicerydów oraz 25-50% wzrost stężenia cholesterolu całkowitego w ciąży. Ponadto stwierdzono 50% wzrost stężenia LDL-cholesterolu i 30% wzrost stężenia HDL-cholesterolu w połowie ciąży, który w trzecim trymestrze nieco się obniża. W badaniach Knoppa i wsp. stwierdzono, że najlepszym testem różnicującym grupę kobiet z cukrzycą ciężarnych od kobiet u których GDM nie występuje jest hipertriglicerydemia [27]. Również w innych badaniach potwierdzono obserwację, iż hipertriglicerydemia jest cechą cukrzycy ciężarnych [28,29].

1.4. Insulina a zaburzenia gospodarki lipidowej

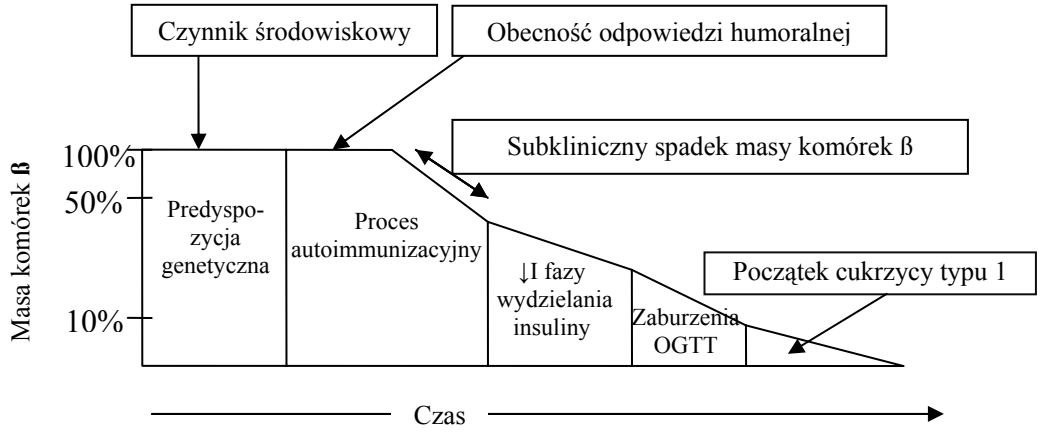
Insulina jest kluczowym hormonem regulującym odpowiednie stężenie glukozy we krwi. Jest również ważnym czynnikiem regulującym gospodarkę lipidową poprzez pobudzenie syntezy oraz hamowanie degradacji lipidów zarówno w wątrobie jak i tkankach obwodowych [30]. W przypadku niedoboru insuliny spada aktywność enzymów potrzebnych do syntezy lipidów, w związku z czym spada nasilenie lipogenezy. Inną przyczyną obniżonej lipogenezy w stanach niedoboru insuliny są wolne kwasy tłuszczowe uwalniane w dużych ilościach przez kilka hormonów, normalnie blokowanych przez insulinę, takich jak hormon wzrostu, kortyzol czy katecholaminy [31]. Wzrost stężenia wolnych kwasów tłuszczowych jest przyczyną

hamowania ich własnej syntezy mechanizmem sprzężenia zwrotnego (poprzez hamowanie karboksylazy acetylo-Co-A). Efekt „netto" insuliny na tkankę tłuszczową ma więc charakter anaboliczny. W badaniach eksperymentalnych wykazano, iż insulina wpływa również na produkcję receptorów LDL. Jej obecność koreluje ze wzrostem ilości receptorów i zwiększeniem wiązania oraz degradacji LDL-cholesterolu [32]. Insulina powoduje również obniżenie aktywności lipazy wątrobowej, czego efektem jest zmniejszenie stopnia katabolizmu cząstek HDL w wątrobie i związany z tym wzrost stężenia frakcji HDL-cholesterolu w krążeniu [33].

1.5. Autoimmunizacyjna cukrzyca typu 1

Cukrzyca typu 1 jest chorobą wynikającą z uszkodzenia komórek beta wysp trzustkowych w wyniku istniejącego procesu autoimmunizacyjnego u osób genetycznie predysponowanych [34-36]. Ogólnie przyjętym i akceptowalnym obecnie modelem naturalnego przebiegu cukrzycy typu 1 jest model opisany 20 lat temu przez Eisenbartha [34]. Zgodnie z nim, osoba genetycznie predysponowana do rozwoju cukrzycy typu 1 styka się z czynnikiem środowiskowym wywołującym chorobę. Zapoczątkowuje to proces autoimmunizacyjny, niemy klinicznie, który można wykryć na podstawie obecności przeciwciał. Dopiero w późniejszym stadium choroby, kiedy zostanie uszkodzona znaczna większość komórek beta pojawia się nietolerancja glukozy, potem jawna cukrzyca i całkowita destrukcja komórek beta (Rycina 2).

Rycina 2. Naturalny przebieg cukrzycy typu 1 wg Eisenbartha, na podstawie [27]



Cukrzyca typu 1 rozwija się na skutek braku lub znacznego niedoboru insuliny. Organizm posiada bardzo duże rezerwy produkcji insuliny. Dopiero przy zniszczeniu ponad 80% komórek beta pojawiają się pierwsze objawy upośledzenia tolerancji glukozy, zniszczenie 90% tych komórek wywołuje klinicznie jawną cukrzycę. Cukrzyca typu 1 może pojawić się w ciągu całego życia. Szczyt zachorowania przypada w dzieciństwie między 7 a 12 rokiem życia. U większości chorych w momencie rozpoznania cukrzycy stwierdza się obecność przeciwciał skierowanych przeciwko antygenom wysp trzustkowych [36,37]. Rozpoznanie postawione po 30 roku życia może być również konsekwencją niedoboru bądź braku insuliny wynikającego z autoimmunizacyjnego zniszczenia komórek beta. Czas trwania procesu autoimmunizacyjnego niszczenia komórek nie jest znany. Proces ten może przebiegać wolno, co powoduje, że objawy kliniczne pojawiają się również wolniej i są mniej charakterystyczne. Identyfikacja tego rodzaju cukrzycy może sprawiać trudności. Ten typ cukrzycy określany jest jako cukrzyca autoimmunizacyjna o powolnym przebiegu (LADA, ang. Latent Autoimmune Diabetes in Adults) [38,39]. Objawy kliniczne zależą w dużej mierze od wieku zachorowania oraz od szybkości procesu autoimmunizacyjnego, a większość z nich związana jest z hiperglikemią i diurezą

osmotyczną. Typowe objawy przedmiotowe są takie same jak w cukrzycy typu 1 tj. poliuria, polidypsja, suchość śluzówek, osłabienie, zmniejszenie masy ciała, w cięższych postaciach kwasica i śpiączka ketonowa. Autoimmunizacyjna cukrzyca często współistnieje z innymi chorobami o podłożu autoimmunizacyjnym, szczególnie z chorobami tarczycy, nadnerczy, celiakią [40,41].

1.6. Rola przeciwciał przeciw antygenom wysp trzustkowych w rozpoznaniu cukrzycy typu 1

Główną rolę w patogenezie chorób autoimmunizacyjnych odgrywają limfocyty T skierowane przeciwko autoantygenom [42-45]. Największe znaczenie w patogenezie cukrzycy typu 1 przypisuje się obecnie insulinie, dekarboksylazie kwasu glutaminowego oraz fosfatazie tyrozyny białkowej [46-48]. W etiopatogenezie cukrzycy typu 1 kluczową rolę odgrywa komórkowy układ odporności. O toczącym się procesie autoimmunizacji świadczą krążące we krwi autoprzeciwciała skierowane przeciwko różnym antygenom wysp trzustkowych. Znanych jest wiele rodzajów przeciwciał skierowanych przeciwko różnym antygenom komórek beta wysp trzustkowych oraz przeciw insulinie endogennej. Cztery spośród nich okazały się być najbardziej przydatne jako marker autoimmunizacji w cukrzycy typu 1: ICA (islet cell autoantibodies, przeciwciała przeciwwyspowe), GADA (glutamic acid decarboxylase autoantibodies, przeciwciała przeciwko dekarboksylazie kwasu glutaminowego), IAA (insulin autoantibodies, przeciwciała przeciwinsulinowe), oraz IA-2A (protein tyrosine phosphatase-related protein 2 molecule, przeciwciała przeciwko fosfatazie tyrozyny białkowej) [49-51]. Przeciwciała IA-2A obejmują przeciwciała ICA 512 i IA-2cA. Powszechnie uważa się, że przeciwciała nie są czynnikiem inicjującym proces

odpowiedzi na własne autoantygeny, ale są wynikiem uszkodzenia komórek wysp trzustkowych [52,53].

Przeciwciała ICA stanowią grupę poliklonalnych autoprzeciwciał, które reagują ze wszystkimi komórkami wysp trzustkowych (α, ß, δ oraz komórki PP). Autoprzeciwciała dla antygenów tłuszczowych i białkowych rozpoznawane przez ICA to sialoglikokonjugat [54], GAD [55] oraz IA-2 [56]. Jak wspomniano rola przeciwciał ICA, jak innych autoprzeciwciał w destrukcji komórek beta wysp trzustkowych nie jest do końca określona, ale przeciwciała te stanowią istotny marker immunizacji komórek beta [57-58]. W momencie rozpoznania cukrzycy typu 1 u przeszło 60-80% pacjentów wykazuje się obecność ICA [59]. Częstość ICA w populacji ogólnej kształtuje się na poziomie około 0,2-4,1% [60-62], a u krewnych pierwszego stopnia chorych na cukrzycę typu 1 około 2,7-7,8% [63,64]. Wykrycie tych przeciwciał u pacjentów dorosłych z rozpoznaną cukrzycą typu 2 pozwala rozpoznać cukrzycę autoimmunizacyjną o powolnym przebiegu (LADA) [38,65-68]. Pacjenci tacy w krótkim czasie od rozpoznania cukrzycy wymagają insuliny celem wyrównania glikemii [69-71].

Pierwszym, opisanym w 1983 roku przez Palmera, wyspowym autoantygenem była insulina [72]. Przy rozpoznaniu cukrzycy typu 1 IAA pojawiają się u 35-60% dzieci, u starszych są zdecydowanie rzadsze [60]. W populacji osób zdrowych częstość IAA kształtuje się na poziomie 1% [60,73].

Lata 90. XX w. przyniosły odkrycie przeciwciał przeciwko dekarboksylazie kwasu glutaminowego (GADA) [74]. Dekarboksylaza kwasu glutaminowego, będąca enzymem odpowiedzialnym za przemianę L-glutaminianu do kwasu gama-aminomasłowego i uczestnicząca w procesie sekrecji insuliny jest kluczowym autoantygenem odgrywającym rolę w patogenezie cukrzycy typu 1. GAD wykazuje

ekspresję nie tylko w komórkach beta, ale także przede wszystkim ekspresję w układzie nerwowym. Inne tkanki wykazujące ekspresję GAD to jądra, jajniki, nadnercza, przysadka, tarczyca, nerki [75]. GADA mogą występować w dwóch formach jako anty-GAD65 oraz anty-GAD67 [76]. W diagnostyce przedklinicznej cukrzycy typu 1 istotną rolę odgrywają jedynie przeciwciała antyGAD65 [69,76,77]. Ponieważ GADA utrzymują się dłużej po rozpoznaniu cukrzycy typu 1, mogą być częściej obecne niż ICA u pacjentów z cukrzycą typu LADA. GADA stwierdza się u 2-4% populacji zdrowej [78-80], 79-80% w okresie przedklinicznej cukrzycy, u 80-88 % pacjentów ze świeżo rozpoznaną cukrzycą typu 1 i u 6-13% krewnych pierwszego stopnia [53,78-83].

Kolejnym autoantygenem odgrywającym rolę w procesach autoimmunizacji jest fosfataza tyrozyny białkowej (IA-2) zidentyfikowana przez Rabina i wsp. oraz Lana i wsp. w 1994 roku [84,85]. Podobnie jak GAD, IA-2 można znaleźć w tkankach układu nerwowego oraz w tkankach układu endokrynnego [86]. W niektórych badaniach zwrócono uwagę na późniejsze pojawianie się ICA512 w stosunku do GADA, pojawienie się więc ICA512 może służyć jako zwiastun niedługo pojawiającej się klinicznie jawnej cukrzycy typu 1. Przeciwciała IA-2 i IA-2ß są wykrywane u około 60-70% pacjentów ze świeżo rozpoznaną cukrzycą typu 1 [81,85,86] oraz u 2,2-4,4% krewnych pierwszego stopnia [82,83]. Częstość obecnych przeciwciał IA-2 w populacji ogólnej kształtuje się na poziomie 2-3% [79,80].

Przeciwciała ICA wykrywane są metodą immunofluorescencji pośredniej przy użyciu grupy krwi 0 ludzkiej trzustki jako substratu lub metodą ELISA (ocena ilościowa). Przeciwciała skierowane przeciwko swoistym antygenom wysp trzustkowych: GADA, IA-2A czy IAA oznacza się obecnie metodą radioimmunologiczną lub ELISA [52,73,87,88,89].

W przeprowadzonych obecnie badaniach wśród zdrowych osobników wykazano, że obecność przeciwciał skierowanych przeciwko antygenom wysp trzustkowych jest silnym predykatorem wystąpienia w przyszłości cukrzycy [78,79,83,90,91]. Wykazano w badaniach, że ryzyko cukrzycy typu 1 rośnie wraz z liczbą obecnych typów przeciwciał i w przypadku wykazania obecności wszystkich czterech rodzajów (ICA, GADA, IAA, IA-2A) ryzyko to wynosi blisko 100% u osób blisko spokrewnionych z chorymi na cukrzycę typu 1 [73,92-94]. W populacji polskiej w 5-letnich badaniach prospektywnych występowanie ICA w mianie powyżej 20 JDF (Juvenile Diabetes Foundation) i GADA wiązało się z 80% ryzykiem zachorowania [93,94]. Liczne badania udowodniły możliwość prognozowania rozwoju cukrzycy typu 1 przy łącznym oznaczeniu autoprzeciwciał nie tylko u krewnych pierwszego stopnia, ale również w populacji ogólnej [73,82,83,95]. W jednym z badań wykazano, że obecność dwóch przeciwciał (GADA i IA-2A) niesie za sobą 50% ryzyko rozwoju cukrzycy typu 1 w ciągu 5 lat, po 10 latach jest ono jeszcze większe [90]. W innych badaniach wykazano z kolei, że obecność przeciwciał IAA dodatkowo, oprócz GADA i IA-2A, zwiększa ryzyko rozwoju cukrzycy typu 1 do 70% w ciągu 5 lat [83]. Według badania UKPDS (*United Kingdom Prospective Diabetes Study*) u ponad 50% pacjentów ze świeżo rozpoznaną cukrzycą i dodatnimi przeciwciałami GADA rozwija się niedobór insuliny w ciągu 10 lat w porównaniu z pacjentami bez tych przeciwciał. W konsekwencji 84% pacjentów z obecnymi przeciwciałami GADA będzie wymagało stosowania insuliny w ciągu 6 lat [96]. Dotychczas przeprowadzone badania wykazały, iż pozostałe przeciwciała nie mają dostatecznej przydatności w prognozowaniu ryzyka cukrzycy typu 1 [60,97].

1.7. Autoimmunizacyjna cukrzyca ciężarnych i ryzyko rozwoju poporodowej cukrzycy typu 1

Dotychczasowe badania wskazują na częste występowanie cukrzycy typu 1 w grupie kobiet z przebytą cukrzycą ciężarnych. W badaniu duńskim [18] cukrzyca typu 1 wystąpiła u 3,7% pacjentek, u których wcześniej rozpoznano cukrzycę ciężarnych. Podobne wyniki przedstawili inni badacze [98,99]. Uważa się, że w ciąży dominuje odpowiedź humoralna na rzecz osłabienia reakcji komórkowej. Wpływ ciąży na istniejący wcześniej proces autoimmunizacyjny jest kontrowersyjny [100,101] i różne choroby autoimmunizacyjne w okresie ciąży mogą ulec zaostrzeniu, osłabieniu lub inicjacji [102-104]. W cukrzycy ciężarnych zaburzenia immunologiczne obecne w cukrzycy nakładają się niejako na zmiany immunologiczne typowe dla ciąży ewentualnie wpływając na ryzyko dla matki i płodu. Według dostępnego piśmiennictwa około 10-20% przypadków zaburzeń metabolicznych w okresie ciąży to cukrzyca typu 1 istniejąca już przed ciążą często w przedklinicznym stadium rozwoju. Po ciąży często występuje okres remisji (lata, miesiące) co można przynajmniej częściowo wiązać z dużym zapotrzebowaniem w ciąży na insulinę. Ten okres niejako naśladuje fazę przedcukrzycową (prediabetes) i stanowi dobry potencjalnie okres do próby wdrożenia leczenia prewencyjnego celem spowolnienia, ewentualnie zahamowania autoimmunizacyjnej destrukcji komórek beta. Za toczącym się procesem autoimmunizacyjnym przemawia obecność krążących we krwi przeciwciał ICA, IA-2A, GADA i IAA oraz obecność antygenów DR3, DR4 układu HLA, związanych z predyspozycją do cukrzycy typu 1. W niektórych badaniach u zaskakująco wysokiego odsetka pacjentek po przebytej cukrzycy ciężarnych stwierdzano obecność przeciwciał przeciwko antygenom wysp trzustkowych, co było istotnym czynnikiem predykcyjnym wystąpienia w przyszłości cukrzycy typu 1 [69,105]. W badaniach Petersena i wsp.

[105] wszystkie pacjentki, u których w okresie ciąży stwierdzono obecność przeciwciała GADA rozwinęły cukrzycę typu 1 w ciągu kilku miesięcy po porodzie. Podobnie w dużych badaniach Tuomilehto i wsp. stwierdzono silną wartość predykcyjną przeciwciał GADA wykrywanych w okresie ciąży w przewidywaniu rozwoju cukrzycy typu 1 (82%) [69] W badaniach niemieckich również wykazano u 18,1% pacjentek z GDM obecność przynajmniej jednego typu z przeciwciał, w tym 9,5% stwierdzono obecność GADA, 8,5% – ICA, 4,2% – IA-2A [106]. U 29% pacjentek z obecnymi przeciwciałami w ciąży powikłanej GDM rozwinęło cukrzycę typu 1 w ciągu 2 lat [106]. W grupie pacjentek, u których nie stwierdzono obecności przeciwciał częstość ta nie przekraczała 2% [106]. Ryzyko rozwoju cukrzycy typu 1 po GDM rośnie wraz ze zróżnicowaniem obecnych przeciwciał. W jednym z badań wykazano, że w przypadku obecności dwóch typów przeciwciał ryzyko rozwoju cukrzycy typu 1 w ciągu 2 lat wynosi 61%, przy obecności trzech przeciwciał – 84% [106]. Również badania fińskie wykazały, iż ciąża „identyfikuje" dobrze grupę kobiet o wysokim zagrożeniu rozwojem cukrzycy w przyszłości [107]. Wykazano, że około 10% pacjentek rozwinie cukrzycę w okresie 6 lat, z czego aż połowa cukrzycę typu 1 [107]. Jak dotąd niewiele jest badań poświęconych obecności IAA u pacjentek z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych [106,108-110]. W dostępnych badaniach obecność przeciwciał określono jako 0-6,2% [106,108-110]. Podobnie jak w cukrzycy typu 1, również u pacjentek z autoimmunizacyjną cukrzycą ciężarnych występują antygeny układu HLA (HLA-DR3 i HLA-DR4) związane z predyspozycją do wystąpienia cukrzycy typu 1 [98,111,112]. Kiedy należy podejrzewać autoimmunizacyjną cukrzycę ciężarnych? Również w niewielu badaniach przedstawiono charakterystykę kliniczną pacjentek z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych zagrożonych rozwojem cukrzycy typu 1. Większość autorów zgadza się, iż bardziej narażone są kobiety szczuplejsze (BMI <25 kg/m2) ,

młodsze (poniżej 27 roku życia), wymagające w okresie ciąży insuliny [106,113]. Ponadto część autorów zwraca uwagę na gorsze wyrównanie cukrzycy pacjentek w okresie ciąży (wyższy odsetek HbA1c), wyższą glikemię na czczo oraz glikemię w trakcie OGTT, niższą I fazę wydzielania insuliny, niższy poziom insulinemi na czczo [114,115]. W badaniu polskim pacjentki z tej grupy w wywiadzie znacznie częściej zgłaszały niepowodzenie poprzednich ciąż, a noworodki charakteryzowały się stosunkowo częściej makrosomią [114]. Stwierdzenie przeciwciał GADA, ICA, IA-2A pozwala na rozpoznanie autoimmunizacyjnej cukrzycy ciężarnych, co niesie za sobą istotne implikacje kliniczne. Wydaje się, iż pacjentki z takim rozpoznaniem powinny być objęte szczególną opieką w trakcie ciąży jak również po porodzie. Istnieje bowiem realne zagrożenie związane z klinicznym ujawnieniem się cukrzycy typu 1 i jej ostrymi powikłaniami w postaci kwasicy ketonowej, a nawet śpiączki. Nie jest jasny natomiast wpływ obecności przeciwciał na potomstwo [116]. Dowiedziono, że zdolność przechodzenia do krążenia płodowego mają nie tylko, jak wcześniej sądzono, przeciwciała przeciwinsulinowe klasy IgG oraz kompleksy proinsuliny związanej z przeciwciałami [117,118], ale także przeciwciała GADA i IA-2A [119]. W niektórych badaniach autorzy sugerują, że autoimmunizacja związana z cukrzycą typu 1 zaczyna się już w trakcie życia płodowego. Wskazują oni na infekcje w trakcie ciąży jako czynnik ryzyka rozwoju cukrzycy typu 1 [120-122]. Natomiast ekspozycja płodu na matczyną cukrzycę, wydaje się mieć znaczenie ochronne dla potomstwa przez dwie pierwsze dekady życia [121,123]. To spostrzeżenie pozostaje w łączności z wynikami innych badań, w których wykazano iż potomstwo matek, urodzone przed rozwojem matczynej cukrzycy, ma większe ryzyko rozwoju cukrzycy od potomstwa, które eksponowane było na matczyną cukrzycę [123]. Co więcej w innym badaniu wykazano, iż ekspozycja płodu na przeciwciała przeciwwyspowe u dzieci matek chorych na

cukrzycę typu 1 wykazuje działanie ochronne przeciwko autoimmunizacji komórek beta i cukrzycy [124], zasugerowano także, iż transmisja przezłożyskowa przeciwciał może wywoływać indukcję tolerancji w późniejszym życiu potomstwa [124,125], wymaga to jednak jeszcze dalszych badań. Jak dotąd nie istnieją żadne wytyczne odnośnie rozpoznawania postaci autoimmunizacyjnej cukrzycy ciężarnych. Wiedza na temat podłoża choroby i jasne opisanie tej grupy ciężarnych może zapobiec tym groźnym powikłaniom, poprzez monitorowanie pacjentek, wczesne rozpoczęcie leczenia. Ponadto w chwili pojawienia się programów hamujących lub zapobiegających rozwojowi cukrzycy typu 1, osoby z autoimmunizacyjną GDM stanowią kolejną grupę, zagrożoną rozwojem cukrzycy typu 1, nadającą się do wdrożenia programów interwencyjnych.

2. Założenia pracy

Ponieważ ciężarne z autoimmunizacyjną cukrzycą ciężarnych nie są ostatecznie opisane brak jest określenia częstości tej grupy chorych, szczególnie w populacji polskiej, a charakterystyka kliniczna tej grupy nie jest jednoznaczna. Dysponując dużym materiałem pacjentek w ciąży, leczonych w Poradni dla Ciężarnych Katedry i Kliniki Chorób Metabolicznych, podjęto szczegółowe badanie nad tą grupą chorych.

3. Cele badania

1. Określenie częstości występowania cukrzycy ciężarnych (GDM) z obecnymi przeciwciałami przeciwko antygenom wysp trzustkowych.
2. Analiza porównawcza wybranych parametrów klinicznych, immunologicznych, biochemicznych u pacjentek z GDM i obecnymi przeciwciałami dla antygenów komórek wysp trzustkowych, pacjentek z GDM bez obecnych przeciwciał dla antygenów komórek wysp trzustkowych oraz grupą pacjentek, u których wykluczono cukrzycę ciężarnych.
3. Charakterystyka kliniczna pacjentek z GDM i obecnymi przeciwciałami przeciwko antygenom wysp trzustkowych.

4. Materiał i metody

Do badania włączono 247 ciężarne objęte opieką Poradni dla Kobiet Ciężarnych z Cukrzycą przy Klinice Chorób Metabolicznych. Wszystkie badane wyraziły zgodę na udział w badaniach. Większość pacjentek kierowanych było do Poradni z podejrzeniem cukrzycy ciężarnych na podstawie nieprawidłowego testu przesiewowego z obciążeniem 50g glukozy najczęściej przez lekarzy ginekologów, ale także diabetologów.

U wszystkich badanych przeprowadzono ankietę obejmującą następujące dane: wiek, czynniki ryzyka chorób naczyniowych takich jak: nadciśnienie tętnicze, choroba niedokrwienna serca, hipercholesterolemia, indeks masy ciała (BMI) przed ciążą, obecna masa ciała oraz przyrost masy ciała w ciąży, wywiad ginekologiczno-położniczy (stosowanie w przeszłości antykoncepcji, leczenie hormonalnego, ilość ciąż, niepowodzeń położniczych, waga urodzeniowej dzieci), a także wywiad rodzinny w kierunku cukrzycy i chorób o podłożu autoimmunizacyjnym oraz otyłości.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego.

U 246 pacjentek wykonano komplet badań immunologicznych obejmujący ocenę obecności przeciwciał przeciwko dekarboksylazie kwasu glutaminowego, przeciwko fosfatazie tyrozyny białkowej (IA-2) oraz przeciwko wyspom trzustki (ICA).

Cukrzyce ciężarnych rozpoznano lub wykluczono na podstawie:

a) testu tolerancji glukozy (OGTT) z obciążeniem 75 g glukozy (213 chorych)

b) testu przesiewowego z obciążeniem 50 g glukozy (34 chore)

Test tolerancji glukozy wykonano i interpretowano według zaleceń WHO i PTD [6,11].

Ponadto u większości chorych oznaczano odsetek HbA1c, stężenie peptydu C na czczo, stężenie cholesterolu całkowitego, triglicerydów, HDL-cholesterolu i LDL-cholesterolu oraz stężenie TSH.

Wszystkie badania wykonano w trakcie pierwszej wizyty pacjentek do Poradni dla Kobiet Ciężarnych z cukrzycą, a więc z reguły między 24-28 tygodniem ciąży.

Metody:

a/ Badanie kliniczne

Pomiary masy ciała i wzrostu dokonywano wystandaryzowanymi metodami. Przyrost masy ciała w ciąży wyliczono jako różnicę między wagą ciężarnej w momencie zgłoszenia się do Poradni Diabetologicznej a wagą przed ciążą. Ciśnienie tętnicze mierzono na prawym ramieniu, w pozycji siedzącej, po co najmniej 5 minutowym odpoczynku za pomocą aparatu Omron.

b/ Badania biochemiczne

Krew do badań pobierano na czczo, co najmniej 8 godzin od ostatniego posiłku.

Przeciwciała antyGAD oznaczono metodą ELISA (Diaplets Anti-GAD plus, Euroimmun) w Pracowni Biochemicznej przy Katedrze i Klinice Chorób Metabolicznych, zgodnie z instrukcją producenta, bez modyfikacji. Jest to analiza ilościowa pozwalająca na wykrycie w surowicy ludzkich przeciwciał IgG przeciw dekarboksylazie kwasu glutaminowego. Czułość metody jest 92%, swoistość 98%. W porównaniu do metody RIA czułość testu wynosi 96%, swoistość 98%. Analiza składała się z 4 kolejnych inkubacji: 1) z kalibratorami, negatywną i pozytywną kontrolą oraz badanymi surowicami, 2) z antygenem GAD, 3) z konjugatem, 4) z substratem, a następnie z odczytu fotometrycznego przy długości fali 450 nm i 405 nm

przy użyciu czytnika firmy BIORAD. Za wynik dodatni uznano wartość przynajmniej 10 IU/ml. Szczegółowe etapy analizy przedstawiono poniżej (Rycina 3).

Rycina 3. Etapy oznaczania przeciwciał GADA metodą ELISA

ETAP I:

	Kalibratory	Kontrole	Surowice badane
Kalibratory 1-6	25 µl		
Pozytywna kontrola		25 µl	
Negatywna kontrola		25 µl	
Surowice pacjentek			25 µl

Inkubacja przez 60 minut na wytrząsarce (500 rpm, temperatura pokojowa)

3-krotne automatyczne płukanie przy użyciu 400 µl buforu myjącego

II ETAP:

GAD związany z biotyną	100 µl

Inkubacja przez 60 minut na wytrząsarce (500 rpm, temperatura pokojowa)

3-krotne automatyczne płukanie przy użyciu 400 µl buforu myjącego

III ETAP:

Konjugat (avidyna związana z peroksydazą)	100 µl

Inkubacja przez 60 minut na wytrząsarce (500 rpm, temperatura pokojowa)

3-krotne automatyczne płukanie przy użyciu 400 µl buforu myjącego

IV ETAP:

Substrat (chromogen)	100 µl

Inkubacja przez 20 minut (temperatura pokojowa, w zacienionym miejscu)

V ETAP:

Roztwór zatrzymujący reakcję	100 µl

Pomiar fotometryczny przy długości fali 450 nm a następnie 405 nm przy pomocy czytnika firmy BIORAD w ciągu 5 minut od zatrzymania reakcji.

Przeciwciała IA-2A oznaczano metodą ELISA (Diapletes Anti IA-2, Euroimmun) w Pracowni Biochemicznej przy Katedrze i Klinice Chorób Metabolicznych, zgodnie z instrukcją producenta, bez modyfikacji Jest to analiza ilościowa, pozwalająca na wykrycie w surowicy ludzkich przeciwciał IgG przeciw fostatazie tyrozyny białkowej. Czułość metody jest 66%, swoistość 99%. W porównaniu do metody RIA czułość testu wynosi 95%, swoistość 100%. Za wynik dodatni uznano wartość przynajmniej 20 IU/ml. Analiza składała się z 4 inkubacji: 1) z rozcieńczonymi badanymi surowicami, 5 kalibratorami oraz pozytywną i negatywną kontrolą, 2) z antygenem IA-2, 3) z konjugatem, 4) z substartem, a następnie z pomiaru fotometrycznego przy długości fali 450 nm i 405 nm. Szczegółowe etapy analizy przedstawiono poniżej (Rycina 4).

Rycina 4. Etapy oznaczania przeciwciał IA-2A metodą ELISA

I ETAP:

	Kalibratory	Kontrole	Surowice badane
Kalibratory 1-5	50 µl		
Negatywna kontrola		50 µl	
Pozytywna kontrola		50 µl	
Surowice pacjentek			50 µl
Bufor rozcieńczający	25 µl		

Inkubacja na wytrząsarce przez 5 sekund, a następnie inkubacja przez 16-20 h w temperaturze 4-8 st.C

3-krotne automatyczne płukanie przy pomocy 400 µl buforu myjącego

II ETAP:

Antygen IA2 związany z biotyną	100 µl

Inkubacja na wytrząsarce w temperaturze pokojowej (60 minut, 500 rmp)

3-krotne automatyczne płukanie przy pomocy 400 µl buforu myjącego

III ETAP:

Konjugat (avidyna związana z peroksydazą)	100 µl

Inkubacja na wytrząsarce w temperaturze pokojowej (60 minut, 500 rmp)

3-krotne automatyczne płukanie przy pomocy 400 µl buforu myjącego

IV ETAP:

Substrat (chromogen)	100 µl

Inkubacja przez 20 minut w temperaturze pokojowej w zacienionym miejscu

V ETAP:

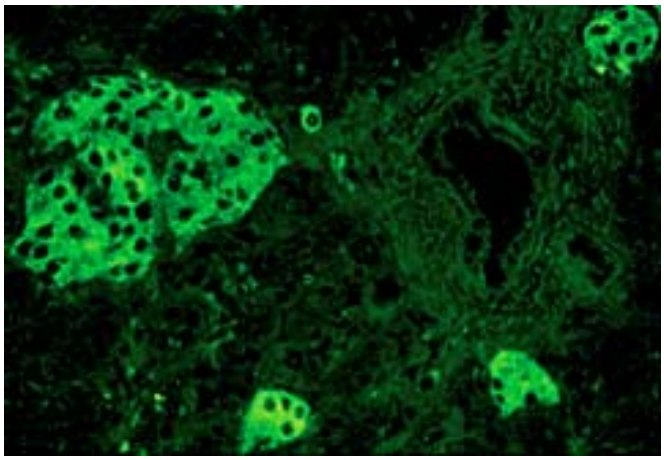
Roztwór zatrzymujący reakcję	100 µl

Odczyt fotometryczny czytnikiem firmy BIORAD przy długości fali 450 nm, a następnie 405 nm.

Przeciwciała przeciwwyspowe (ICA) oznaczono metodą immunofluorescencji pośredniej w Zakładzie Immunologii Klinicznej Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego w Krakowie (Kierownik: prof. dr hab. Marek Zembala). Do testu wykorzystywano skrawki tkankowe małpiej trzustki (odczynniki Pancreas (Monkey), Euroimmun). Jest to test ilościowo-jakościowy pozwalający na wykrycie w surowicy przeciwciał przeciwwyspowych. Przeprowadzano przedłużoną do 18 godzin inkubacje skrawków trzustki małpy z rozcieńczonymi surowicami (25ul) w wilgotnej komorze w temperaturze pokojowej, a następnie 30-minutową inkubację z surowicą kozią zawierającą znakowane fluoresceiną przeciwciała dla ludzkiego IgG (20 ul). Po każdym

etapie wykonywano płukanie buforem fosforanowym (3x10 minut). Ocenę przeprowadzono w mikroskopie fluorescencyjnym przez 2 osoby niezależnie. Za wynik dodatni uznano świecenie wysp trzustkowych w preparatach inkubowanych z surowicą rozcieńczoną 1:10. Preparat z surowicą badaną porównano do równocześnie przeprowadzonego oznaczenia z kontrolnymi surowicami zawierającą (dodatnią) i niezawierającą przeciwciał (ujemną). Przykładowy obraz obecnych przeciwciał ICA widzianych w mikroskopie fluorescencyjnym przedstawiono na Rycinie 5.

Rycina 5. Trzustka małpy. Obraz w mikroskopie fluorescencyjnym przeciwciał ICA (źródło Euroimmun, Medizinische Labordiagnostika AG)



Stężenie peptydu C w surowicy oznaczono metodą ELISA przy użyciu odczynników C-Peptide ELISA, DRG Diagnostics zgodnie z instrukcją producenta, bez modyfikacji.

Odsetek HbA1c oznaczano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) przy użyciu aparatu VARIANT firmy BIORAD zgodnie z instrukcją producenta, bez modyfikacji.

Oba oznaczenia wykonano w Pracowni Biochemii przy Katedrze i Klinice Chorób Metabolicznych.

Stężenie glukozy oznaczono metodą enzymatyczną na aparacie Hitachi.

Lipidogram: Stężenie w surowicy krwi cholesterolu całkowitego, trigkicerydów, HDL i LDL-cholesterolu mierzono metodą enzymatyczną, z użyciem odczynników firmy Roche.

Stężenie TSH oznaczono metodą radioizotopową.

Stężenie glukozy, lipidogram oraz stężenie TSH wykonano w Zakładzie Diagnostyki Katedry Biochemii Klinicznej – Kierownik Katedry i Zakładu Biochemii Klinicznej: prof. dr hab. med. Jerzy Naskalski.

Podział badanych:

Pacjentki podzielono na następujące grupy:

Grupa 1: pacjentki z cukrzycą ciężarnych i obecnymi przeciwciałami przeciwko antygenom wysp trzustkowych

Grupa 1a: pacjentki z obecnym jednym typem przeciwciał przeciwko antygenom wysp trzustkowych

Grupa 1b: pacjentki z obecnym więcej niż jednym typem przeciwciał przeciwko antygenom wysp trzustkowych

Grupa 2: pacjentki z cukrzycą ciężarnych i nieobecnymi przeciwciałami przeciwko antygenom wysp trzustkowych

Grupa 3: pacjentki, u których wykluczono cukrzycę ciężarnych

Grupa 3a: pacjentki z nieobecnymi przeciwciałami przeciwko antygenom wysp trzustkowych

Grupa 3b: pacjentki z obecnymi przeciwciałami przeciwko antygenom wysp trzustkowych

Analiza statystyczna:

Analiza statystyczna obejmowała:

1. Obliczenie wartości średnich glukozy, lipidogramu, ciśnienia tętniczego, wskaźnika masy ciała BMI przed ciążą, przyrostu wagi w ciąży, HbA1c, peptydu C i TSH u pacjentek w grupie 1, 2 i 3.
2. Określenie częstości poszczególnych przeciwciał u pacjentek z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych (grupa 1 i 2) oraz w grupie z wykluczoną cukrzycą ciężarnych (grupa 3).
3. Porównanie wartości średnich glukozy, lipidogramu, ciśnienia tętniczego, wskaźnika masy ciała BMI przed ciążą, przyrostu wagi w ciąży, HbA1c, peptydu C i TSH u pacjentek w grupie 1, 2 i 3a a także 1a, 2 i 3a oraz 1b, 2 i 3a. Do porównania średnich wartości cech użyto testu ANOVA (dla cech o rozkładzie normalnym) oraz testu ANOVA Kruskala-Wallisa (dla cech, które nie miały rozkładu normalnego).
4. Porównanie wartości średnich glukozy, lipidogramu, ciśnienia tętniczego, wskaźnika masy ciała BMI przed ciążą, przyrostu wagi w ciąży, HbA1c, peptydu C i TSH w obrębie grupy 1a i 1b. Do analizy użyto testu t (dla cech o rozkładzie normalnym) oraz test U Manna-Whitneya (dla cech, które nie mają rozkładu normalnego).
5. Analizę regresji celem identyfikacji niezależnych czynników ryzyka obecności przeciwciał w ciąży powikłanej cukrzycą. Zmienne użyte do analizy obejmowały wiek w momencie wykonania OGTT w ciąży, wzrost, przyrost wagi w ciąży, BMI przed ciążą, ilość ciąż, sposób leczenia GDM (insulina lub tylko leczenie dietetyczne), wywiad

rodzinny, ciśnienie tętnicze, glikemie w trakcie testu OGTT, HbA1c, TSH, lipidogram oraz peptyd C.

6. Wyznaczenie metodą krzywej ROC punktów odcięcia dla odsetka HbA1c i stężenia peptydu C oddzielającego pacjentki GDM Ab+ od pacjentek GDM Ab-. Obliczono czułość i swoistość, oraz pozytywną wartość predykcyjną. Wyznaczono iloraz szans (OR) z 95% przedziałem ufności dla ryzyka obecności przeciwciał u pacjentek z GDM i wyższym odsetkiem HbA1c oraz dla ryzyka obecności przeciwciał u pacjentek z GDM i niższym stężeniem peptydu C.

Za poziom istotności statystycznej przyjęto $p \leq 0,05$.

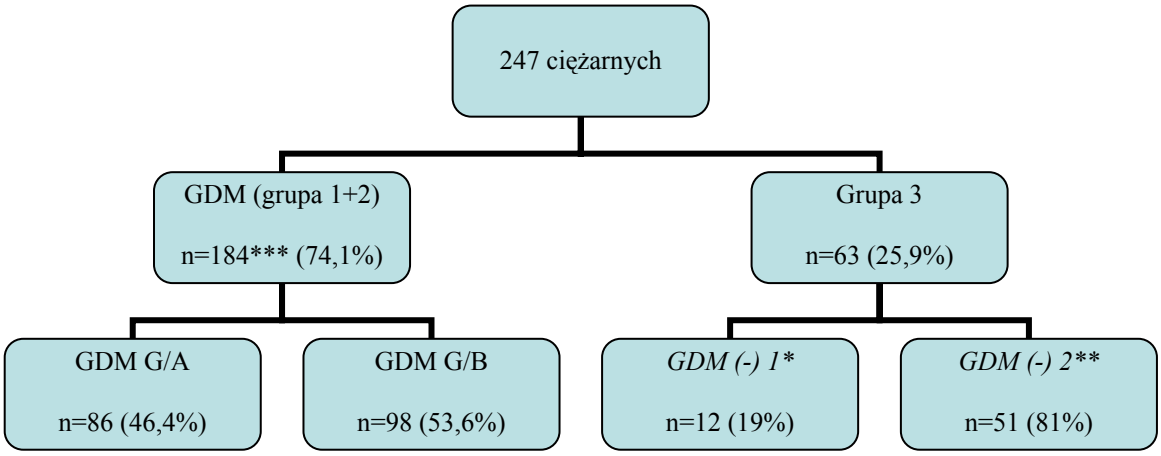
Analizę statystyczną wykonano przy użyciu pakietu statystycznego STATISTICA 6.0.

5. Wyniki

5.1. Charakterystyka badanej grupy

Badaniem zostało objętych 247 kolejnych ciężarnych, które wyraziły zgodę na udział w badaniu będących w opiece Poradni Cukrzycowej dla Kobiet Ciężarnych. Wśród 184 ciężarnych z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych u 86 (46,4%) stosowano leczenie wyłącznie dietą, a u 98 (53,6%) – dietą i insuliną. W grupie 63 pacjentek, u których nie rozpoznano cukrzycy ciężarnych, 51 (81%) miało dodatni wynik testu przesiewowego w kierunku cukrzycy ciężarnych, ale prawidłowy wynik testu diagnostycznego (Rycina 6).

Rycina 6. Charakterystyka badanej grupy



* – ciężarne, które miały wykonany tylko test OGTT 75 g glukozy

** – ciężarne z nieprawidłowym wynikiem testu przesiewowego i prawidłowym wynikiem testu diagnostycznego w kierunku cukrzycy ciężarnych

*** – do dalszej analizy włączono 183 pacjentki z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych, które miały oznaczony komplet badań immunologicznych

Średni wiek pacjentek w badanej grupie wynosił 30 lat. 42,5% stanowiły pierworódki. Pacjentki zgłaszały się do Poradni Cukrzycowej średnio w 27 tygodniu ciąży. Średni wskaźnik masy ciała BMI wynosił 24 kg/m2. Średnie wartości ciśnienia tętniczego skurczowego i rozkurczowego jak również TSH znajdowały się w granicach normy. Średnie stężenie glikemii na czczo wynosiło 4,6 mmol/l, w 2. godzinie testu OGTT- 8 mmol/l. Charakterystykę badanej grupy przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Charakterystyka kliniczna badanej grupy

Badana cecha	**N = 247**			
	n	$\bar{x}$	OD	Me
Wiek [lata]	247	30,2	4,87	
Tydzień ciąży w momencie zgłoszenia się do badania [tygodnie]	247	26,8	5,64	
BMI przed ciążą [kg/m2]	215	24	4,70	4,48
CTK skurczowe [mmHg]	245	118,57	11,91	
CTK rozkurczowe [mmHg]	245	75,75	7,90	
TSH [uIU/ml]	183	1,93	1,40	1,74
Stężenie glukozy na czczo w OGTT [mmol/l]	211	4,65	0,86	
Stężenie glukozy w 2 godzinie po OGTT [mmol/l]	200	8,06	2,51	
HbA1c [%]	229	5,11	0,59	

W grupie ciężarnych z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych średni wiek wynosił 30 lat a średnie BMI przed ciążą 24 kg/m2. Średnie wartości ciśnienia podobnie jak średni odsetek HbA1c i średnie stężenie TSH mieściły się w granicach normy. Pacjentki zgłaszały się średnio w 26 tygodniu ciąży. W trakcie testu OGTT średnie stężenie glukozy na czczo wynosiło 4,8 mmol/l, w 2 godzinie 9,1 mmol/l. Charakterystykę pacjentek przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3. Charakterystyka kliniczna pacjentek z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych

Badana cecha	N=183			
	n	$\bar{x}$	OD	Me
Wiek [lata]	183	30,44	5,08	
Tydzień ciąży w momencie zgłoszenia się do badania [tygodnie]	183	26,58	5,85	
BMI przed ciążą [kg/m2]	154	24,25	4,81	
CTK skurczowe [mmHg]	182	119,04	12,64	
CTK rozkurczowe [mmHg]	182	75,88	8,26	
TSH [uIU/ml]	146	1,93	1,51	1,72
Stężenie glukozy na czczo w OGTT [mmol/l]	147	4,84	0,93	
Stężenie glukozy w 2 godzinie po OGTT [mmol/l]	137	9,14	2,22	
HbA1c [%]	174	5,2	0,61	

5.2. Obecność przeciwciał przeciwko antygenom wysp trzustkowych w badanej populacji kobiet z cukrzycą ciężarnych oraz w grupie pacjentek, u których wykluczono cukrzycą ciężarnych

W grupie pacjentek z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych obecność przeciwciał przeciwko antygenom wysp trzustkowych stwierdzono u 18,6% ciężarnych z czego u 13,1% stwierdzono tylko jeden rodzaj przeciwciał, u 5,46% -więcej niż jeden typ. W grupie pacjentek leczonych insuliną u co piątej pacjentki obserwowano przynajmniej jeden rodzaj przeciwciał, u co dziesiątej więcej niż jeden rodzaj. W tabeli 4 przedstawiono częstość występowania przeciwciał w grupie pacjentek z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych z uwzględnieniem podziału na klasy wg. White.

Tabela 4. Obecność przeciwciał u pacjentek z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych

	GDM N=183	*GDM G/A N=85*	*GDM G/B N=98*
Obecność przeciwciał, n (%)	34 (18,6%)	13 (15,29%)	21 (21,43%)
1 przeciwciało, n (%)	24 (13,1%)	12 (14,12%)	12 (12,24%)
>1 przeciwciało, n (%)	10 (5,46%)	1 (1,18%)	9 (9,18%)

Zaskakującym wynikiem okazała się stosunkowo wysoka częstość obecnych przeciwciał w grupie, w której wykluczono GDM (14,28%). Zwraca uwagę, że wszystkie ciężarne z tej grupy, u których stwierdzono obecne przeciwciała miały w aktualnej ciąży nieprawidłowy wynik testu przesiewowego a prawidłowy wynik testu

diagnostycznego w kierunku cukrzycy ciężarnych. W grupie tej przynajmniej 1 typ przeciwciał obecny był u 17,3% ciężarnych, rzadko natomiast występował więcej niż jeden rodzaj przeciwciał (1,92% ciężarnych). Wyniki przedstawiono w tabeli 5.

Tabela 5. Obecność przeciwciał w grupie, w której wykluczono cukrzycę ciężarnych

	Grupa 3 N=63	*GDM (-) 1* N=11*	*GDM (-) 2** N=52*
Obecność przeciwciał, n (%)	9 (14,28%)	0 (0%)	9 (17,3%)
1 typ przeciwciał, n (%)	8 (12,69%)	0 (0%)	8 (15,38)%
>1 typ przeciwciało, n (%)	1 (1,58%)	0 (0%)	1 (1,92%)

*- ciężarne, które miały wykonany tylko test OGTT 75 g glukozy

**- ciężarne z nieprawidłowym wynikiem testu przesiewowego i prawidłowym wynikiem testu diagnostycznego w kierunku cukrzycy ciężarnych

W tabeli 6 przedstawiono częstość występowania poszczególnych przeciwciał w badanych grupach. Najczęściej wykrywanym typem przeciwciał we wszystkich grupach był GADA, w grupie GDM 16,9% pacjentek miało obecne GADA, w tym w grupie leczonej insuliną odsetek ten narastał do 20,41%. W grupie, w której wykluczono GDM obecność GADA stwierdzono u 12,69% ciężarnych. W grupie po nieprawidłowym teście przesiewowym w kierunku GDM ten odsetek był większy i wynosił 15,38%. Najrzadszym obserwowanym typem przeciwciał były IA-2A. W grupie GDM obecność IA-2A stwierdzono u 3,8% ciężarnych, w tym w grupie GDM G/B u 5,1%. U żadnej ciężarnej z grupy z wykluczoną cukrzycą ciężarnych nie wykryto IA-2A. Przeciwciała

ICA występowały z częstością 4,4% w grupie z cukrzycą ciężarnych, w tym w grupie GDM G/B, podobnie jak pozostałe przeciwciała, w wyższym odsetku (7,14%). Zwraca uwagę wyższa częstość przeciwciał GADA i ICA w grupie, w której wykluczono GDM na podstawie testu diagnostycznego w kierunku cukrzycy, a która miała nieprawidłowy wynik testu przesiewowego, w porównaniu z grupą GDM G/A.

Tabela 6. Obecność przeciwciał GADA, IA-2A i ICA w badanych grupach

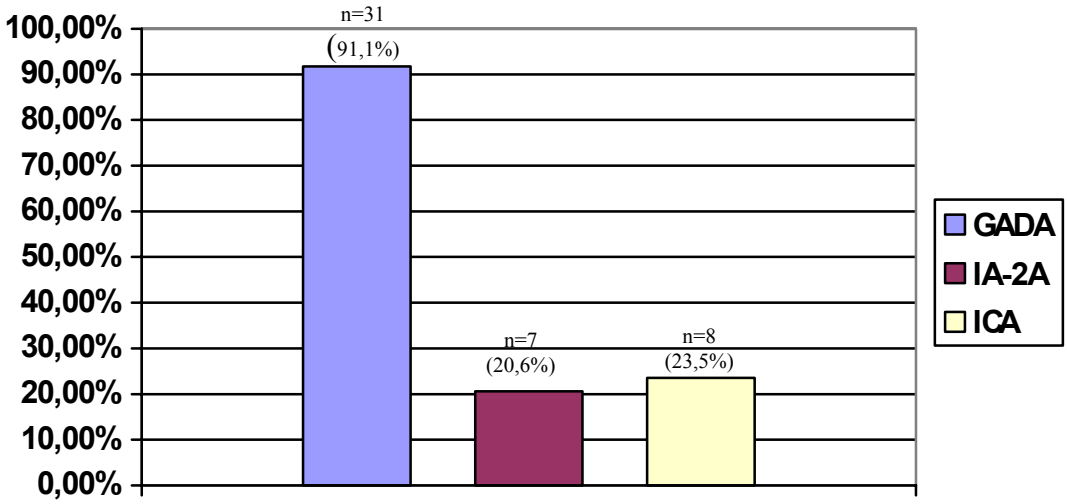
	GDM N=183	*GDM G/A N=85*	*GDM G/B N=98*	Grupa 3 N=63	*GDM (-) 1* N=11*	*GDM (-) 2** N=52*
GADA n (%)	31 (16,90%)	11 (13,95%)	20 (20,41%)	8 (12,69%)	0 (0%)	8 (15,38%)
IA-2A n (%)	7 (3,80%)	2 (3,33%)	5 (5,10%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
ICA n (%)	8 (4,40%)	1 (1,18%)	7 (7,14%)	2 (3,17%)	0 (0%)	2 (3,84%)

*- ciężarne, które miały wykonany tylko test OGTT 75 g glukozy

**- ciężarne z nieprawidłowym wynikiem testu przesiewowego i prawidłowym wynikiem testu diagnostycznego w kierunku cukrzycy ciężarnych

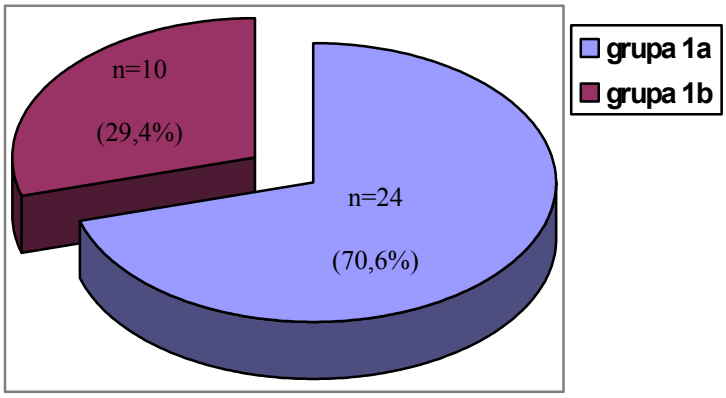
W grupie 1 najczęściej obserwowanymi przeciwciałami były GADA (91,1%). Przeciwciała IA-2A obserwowano u 20,6% pacjentek, ICA u 23,5%. Wyniki przedstawiono na Rycinie 7.

Rycina 7. Obecność przeciwciał GADA, IA-2A, ICA w grupie 1



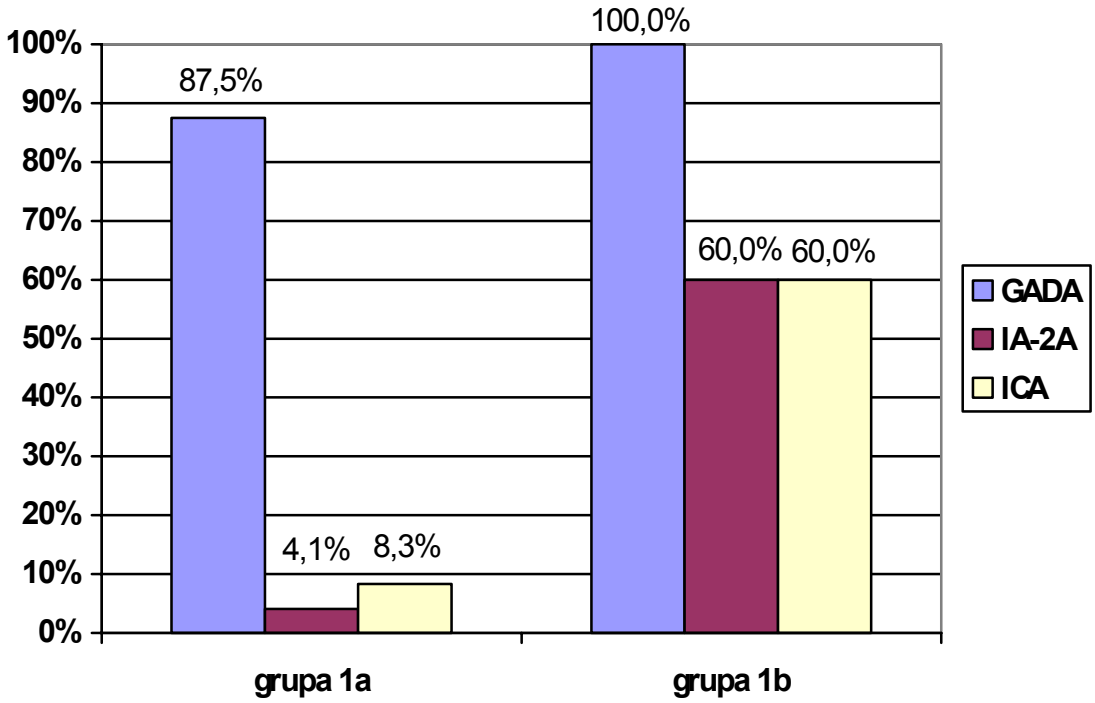
W obrębie grupy 1 tylko jeden rodzaj przeciwciał (grupa 1a) obecny był u 70,6% ciężarnych. U 29,4% pacjentek stwierdzono więcej niż jeden rodzaj przeciwciał – grupa 1b (Rycina 8).

Rycina 8. Częstość przynależności do grupy 1a i 1b w obrębie grupy 1



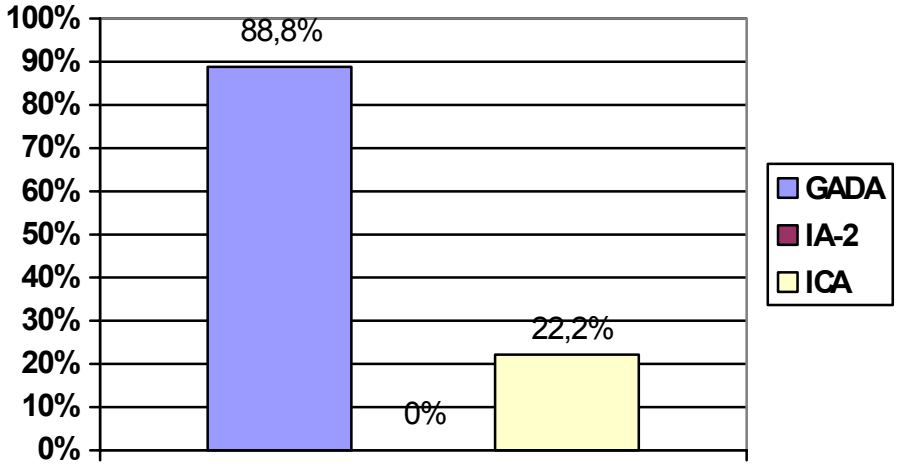
Wśród pacjentek z grupy 1a u 87,5% stwierdzono przeciwciała GADA, u 4,1% IA-2A i u 8,33% ICA. W grupie 1b u wszystkich pacjentek stwierdzono obecność GADA, u 60% IA-2A i u 60% ICA (Rycina 9).

Rycina 9. Obecność GADA, IA-2A i ICA w grupie 1a i 1b



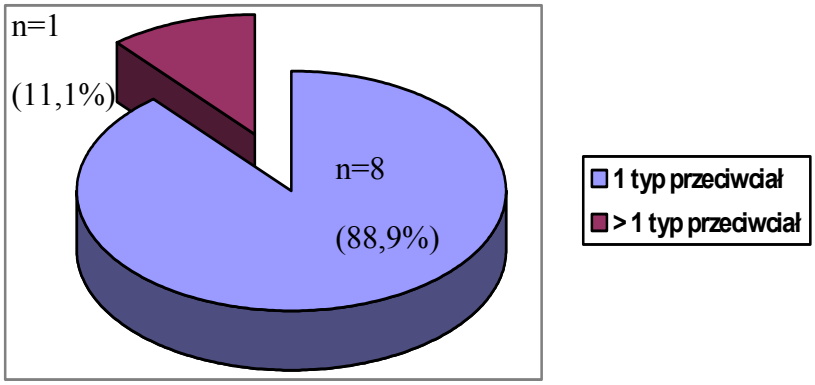
W grupie, w której wykluczono GDM najczęściej stwierdzano obecność przeciwciał dla GAD (88,8%), rzadziej ICA (22,2%). Obecności przeciwciała IA-2A nie stwierdzono u żadnej pacjentki (Rycina 10).

Rycina 10. Obecność przeciwciał GADA, IA-2A, ICA w grupie 3



U 88,9% ciężarnych z wykluczoną GDM i obecnymi przeciwciałami przeciwko antygenom wysp trzustkowych stwierdzono obecność tylko 1 typu przeciwciał, u 11,1% obserwowano więcej niż jeden typ (Rycina 11).

Rycina 11. Ilość obecnych typów przeciwciał w grupie 3b



Powyższe dane wskazują na częste występowanie przeciwciał przeciwko antygenom wysp trzustkowych u pacjentek z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych, szczególnie w grupie leczonej insuliną. Również pacjentki z dodatnim wynikiem testu przesiewowego, u których wyklucza się cukrzycę w teście diagnostycznym, znajdują się w grupie ryzyka występowania przeciwciał. W oparciu o wyżej wymienione badania można sugerować, że wartość kliniczną ma oznaczenie przeciwciał GADA, gdyż występują one najczęściej zarówno w grupie z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych, jak również w grupie ciężarnych z nieprawidłowym wynikiem testu przesiewowego.

5.3. Porównanie wybranych cech klinicznych w poszczególnych grupach ciężarnych

W tabeli 7 przedstawiono porównanie cech klinicznych grup 1, 2 i 3a. Grupa 1 obejmowała 34 ciężarne, grupa 2 – 149, a grupa 3a – 54. Najwięcej pierworódek znajdowało się w grupie 3a (32,35 vs 39,59 vs 61,1%, p<0,01). Średni wiek, BMI, przyrost masy ciała w ciąży oraz ciśnienie tętnicze nie różniło się istotnie w poszczególnych grupach. Wszystkie ciężarne zgłaszały się w podobnym tygodniu ciąży do Poradni Cukrzycowej. We wszystkich grupach stężenie TSH było podobne i mieściło się w granicach normy.

Tabela 7. Porównanie cech klinicznych grup 1, 2 oraz 3a

	Grupa 1 N=34				***Grupa 2 N=149***				***Grupa 3a N=54***				p
	n	$\bar{x}$	SD	Me	n	$\bar{x}$	SD	Me	n	$\bar{x}$	SD	Me	
Wiek [lata]	34	30,7	5,42		149	30,73	5,01		54	29,70	4,13		NS
Tyg.ciąży [tyg.]	34	26,11	5,93		149	26,58	5,87		54	27,74	4,97		NS
BMI p.c [kg/m2]	26	24,12	4,57		128	24,27	4,87		52	23,57	4,51		NS
Przyrost m.c [kg]	27	11,03	6,00		137	8,35	6,37		53	9,561	6,11		NS
CTKs [mmHg]	33	118,3	12,08		149	119,20	12,80		53	117,22	10,13		NS
CTKr [mmHg]	33	76,36	8,49		149	75,77	8,23		53	75,2	7,12		NS
TSH [uIU/ml]	29	2,34	2,57	1,72	117	1,83	1,10	1,85	31	1,89	0,85	2,5	NS
Cukrzyca w rodzinie [%]	32	34,38%			65	44,83%			16	29,63%			NS
Pierworódki [%]	11	32,35%			59	39,59%			33	61,1%			<0,01

Porównując grupę posiadającą wyłącznie jedno przeciwciało (grupa 1 a) z grupą 2 i 3a nie stwierdzono znamiennie istotnych różnic w zakresie charakterystyki klinicznej (tabela 8). Wszystkie pacjentki cechował podobny średni wiek, BMI, przyrost wagi w ciąży, ciśnienie tętnicze. Dodatni wywiad w kierunku cukrzycy był nieco częstszy dla grupy 2, z kolei najmniej pierworódek znajdowało się w grupie 1a.

Tabela 8. Porównanie cech klinicznych grup 1a, 2 i 3a

	Grupa 1a N=24				**Grupa 2 N=149**				**Grupa 3a N=54**				p
	n	$\bar{x}$	SD	Me	n	$\bar{x}$	SD	Me	n	$\bar{x}$	SD	Me	
Wiek [lata]	24	31,4	5,46		149	30,73	5,01		54	29,70	4,13		NS
Tyg.ciąży [tyg.]	24	27,25	5,58		149	26,58	5,87		54	27,74	4,97		NS
BMI p.c [kg/m2]	18	24,42	4,15		128	24,27	4,87		52	23,57	4,51		NS
Przyrost m.c [kg]	19	12,36	6,59		137	8,35	6,37		53	9,561	6,11		NS
CTKs [mmHg]	24	119,4	10,3		149	119,20	12,80		53	117,22	10,13		NS
CTKr [mmHg]	24	75,91	7,32		149	75,77	8,23		53	75,2	7,12		NS
TSH [uIU/ml]	22	2,12	1,81	2,26	117	1,83	1,10	1,85	31	1,89	0,85	2,5	NS
Cukrzyca w rodzinie [%]	6	26,09%			65	44,83%			16	29,63%			NS
Pierworódki [%]	7	29,1%			59	39,59%			33	61,1%			NS

W tabeli 9 porównano pacjentki z grupy 1b, grupy 2 i 3a. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic między grupami w zakresie badanych cech klinicznych. Stężenie TSH we wszystkich grupach było w zakresie normy, największe w grupie 1b (3,03±4,32 uIU/ml). Ponadto pacjentki z grupy 1b zgłaszały się nieco wcześniej do Poradni Cukrzycowej oraz miały najmniejszy przyrost masy w ciąży w stosunku do grup 2 i 3a. Różnice te nie osiągnęły jednak poziomu istotności statystycznej.

Tabela 9. Charakterystyka kliniczna pacjentek z cukrzycą ciężarnych z obecnym więcej niż jednym typem przeciwciał przeciwko antygenom wysp trzustkowych, pacjentek GDM Ab- oraz grupy ciężarnych z wykluczoną cukrzycą ciężarnych

	Grupa 1b N=10				**Grupa 2 N=149**				**Grupa 3a N=54**				p
	n	$\bar{x}$	SD	Me	n	$\bar{x}$	SD	Me	n	$\bar{x}$	SD	Me	
Wiek [lata]	10	29	5,20		149	30,73	5,01		54	29,70	4,13		NS
Tyg.ciąży [tyg.]	10	23,4	6,14		149	26,58	5,87		54	27,74	4,97		NS
BMI p.c [kg/m2]	8	23,43	5,66		128	24,27	4,87		52	23,57	4,51		NS
Przyrost m.c [kg]	8	7,87	2,43		137	8,35	6,37		53	9,561	6,11		NS
CTKs [mmHg]	9	115,4	16,3		149	119,20	12,80		53	117,22	10,13		NS
CTKr [mmHg]	9	77,55	11,49		149	75,77	8,23		53	75,2	7,12		NS
TSH [uIU/ml]	7	3,03	4,32	2,51	117	1,83	1,10	1,85	31	1,89	0,85	2,5	NS
Cukrzyca w rodzinie [%]	5	55,56%			65	44,83%			16	29,63%			NS
Pierworódki [%]	4	40%			59	39,59%			33	61,1%			NS

Powyższe wyniki sugerują, iż pacjentki, u których stwierdza się obecność przeciwciał przeciwko antygenom wysp trzustkowych są skłonne zgłaszać się wcześniej do Poradni Cukrzycowej, a w grupie u której stwierdza się obecność kilku typów przeciwciał występuje najmniejszy przyrost masy ciała w ciąży w stosunku do pozostałych grup.

5.4. Porównanie średnich wartości parametrów gospodarki lipidowej w poszczególnych grupach ciężarnych

W tabeli 10 przedstawiono średnie wartości lipidów w badanych grupach. Stężenie cholesterolu całkowitego było istotnie wyższe w grupie 2 (5,97±1,26 vs 6,44±1,27 mmol/l, $p<0,01$, 6,44±1,27 vs 5,85±1,68 mmol/l, $p<0,01$), a stężenie triglicerydów istotnie wyższe w grupie 3a (2,46±0,89 vs 3,58±2,13 mmol/l, $p<0,05$). We wszystkich grupach stwierdzono podniesione stężenie cholesterolu całkowitego i triglicerydów. Najniższe średnie stężenia lipidów obserwowane były w grupie 1.

Tabela 10. Porównanie średnich stężeń lipidów w grupach 1, 2 i 3a

	Grupa 1 N=34			**Grupa 2 N=149**			**Grupa 3a N=54**			p
	n	$\bar{x}$	SD	n	$\bar{x}$	SD	n	$\bar{x}$	SD	
TC [mmol/l]	32	5,97	1,26	144	6,44	1,27	50	5,85	1,68	<0,01* <0,01**
LDL [mmol/l]	32	3,47	1,18	138	3,65	1,10	49	3,79	1,16	NS
HDL [mmol/l]	32	1,42	0,71	140	1,68	0,76	49	2,22	1,92	NS
TG [mmol/l]	32	2,33	0,75	142	2,46	0,89	49	3,58	2,13	<0,05** <0,1***

*- grupa 1 vs grupa 2

**- grupa 2 vs grupa 3a

***- grupa 1 vs grupa 3a

Porównując średnie wartości lipidogramu w grupie 1a, 2 i 3a nie stwierdzono statystycznie znamiennych różnic w stosunku do grupy 1a (Tabela 11). Zwracało jednak uwagę prawidłowe średnie stężenie LDL-cholesterolu tylko w grupie 1a.

Tabela 11. Porównanie średnich stężeń lipidów w grupie 1a, 2 i 3a

	Grupa 1a N=24			**Grupa 2 N=149**			**Grupa 3 a N=54**			p
	n	$\bar{x}$	SD	n	$\bar{x}$	SD	n	$\bar{x}$	SD	
TC [mmol/l]	22	6,02	1,40	144	6,44	1,27	50	5,85	1,68	<0,05*
LDL [mmol/l]	22	3,23	1,17	138	3,65	1,10	49	3,79	1,16	NS
HDL [mmol/l]	22	1,65	0,93	140	1,68	0,76	49	2,22	1,92	NS
TG [mmol/l]	22	2,49	0,73	142	2,46	0,89	49	3,58	2,13	<0,05*

*- grupa 2 vs 3a

Grupa 1b różniła się natomiast istotnie w stosunku do grupy 2 i 3a w zakresie parametrów gospodarki lipidowej (Tabela 12). W grupie 1b stwierdzono statystycznie istotnie mniejsze stężenie HDL-cholesterolu w stosunku do grupy 2 i 3a (0,93±0,49 vs 1,68±0,76 mmol/l, $p<0,05$, 0,93±0,49 vs 2,22±1,92 mmol/l, $p<0,05$) oraz statystycznie mniejsze stężenie triglicerydów w stosunku do grupy 3a. We wszystkich grupach średnie stężenie HDL-cholesterolu było w granicach normy, natomiast średnie stężenie triglicerydów było w granicach normy tylko w grupie 1b.

Tabela 12. Porównanie średnich stężeń lipidów w grupie 1b, 2 i 3a

	Grupa 1b N=10			Grupa 2 N=149			Grupa 3a N=54			P
	n	$\bar{x}$	SD	n	$\bar{x}$	SD	n	$\bar{x}$	SD	
TC [mmol/l]	10	5,86	0,93	144	6,44	1,27	50	5,85	1,68	<0,01*
LDL [mmol/l]	10	4,00	1,09	138	3,65	1,10	49	3,79	1,16	NS
HDL [mmol/l]	10	0,93	0,49	140	1,68	0,76	49	2,22	1,92	<0,05** <0,05***
TG [mmol/l]	10	1,98	0,70	142	2,46	0,89	49	3,58	2,13	<0,05* <0,05***

*- grupa 2 vs grupa 3a

**- grupa 1b vs grupa 2

***- grupa 1b vs grupa 3a

Powyższe wyniki wskazują, że pacjentki z obecnymi przeciwciałami przeciwko antygenom wysp trzustkowych charakteryzują się odmiennym profilem lipidowym w porównaniu do pozostałych grup. Szczególnie jest to wyrażone w grupie pacjentek z obecnym więcej niż jednym typem przeciwciał, gdzie stwierdzono najniższe stężenie HDL-cholesterolu oraz triglicerydów.

5.5. Porównanie średnich stężeń parametrów gospodarki węglowodanowej w poszczególnych grupach ciężarnych

Zgodnie z oczekiwaniami pacjentki z cukrzycą ciężarnych miały istotnie wyższe stężenie glikemii w trakcie OGTT oraz istotnie wyższy odsetek HbA1c. Stężenie glikemii na czczo oraz w 2. godzinie OGTT, podobnie jak odsetek HbA1c były najwyższe w grupie 1. Stężenie peptydu C na czczo było z kolei najniższe w grupie 1. W zakresie tych różnic nie stwierdzono poziomu istotności statystycznej. Odsetek HbA1c był we wszystkich grupach w granicach wyrównania (Tabela 13).

Tabela 13. Porównanie parametrów gospodarki węglowodanowej w grupach 1, 2 i 3a

	Grupa 1 N=34			**Grupa 2 N=149**			**Grupa 3 a N=54**			p
	n	$\bar{x}$	SD	n	$\bar{x}$	SD	n	$\bar{x}$	SD	
Glikemia na czczo [mmol/l]	29	5,01	1,10	118	4,8	0,88	54	4,20	0,42	<0,001* <0,001**
Glikemia po 2h OGTT [mmol/l]	27	9,55	2,9	110	9,03	2,02	53	5,61	1,07	<0,001* <0,001**
HbA1c [%]	32	5,51	0,79	142	5,13	0,54	47	4,85	0,44	<0,01* <0,05**
Peptyd C [ng/ml]	22	1,98	0,93	111	2,39	1,08	19	2,54	0,85	<0,1*

* – grupa 1 vs grupa 3a

** – grupa 2 vs grupa 3a

Porównując grupę 1a z 2 i 3a (Tabela 14) stwierdzono istotne różnice między grupami 1a i 3a w zakresie średniej glikemii na czczo (4,88±1,07 vs 4,2+0,42 mmol/l, p<0,01), średniej glikemii w 2. godzinie testu OGTT (9,81+3,04 vs 5,61±1,07 mmol/l, p<0,001) oraz odsetka HbA1c (5,3±0,62 vs 4,84±0,85%, p<0,05). Nie stwierdzono znamiennych różnic w stężeniu peptydu C w badanych grupach.

Tabela 14. Porównanie parametrów gospodarki węglowodanowej w grupach 1a, 2 i 3a

	Grupa 1a N=24			**Grupa 2 N=149**			**Grupa 3a N=54**			P
	n	$\bar{x}$	SD	n	$\bar{x}$	SD	n	$\bar{x}$	SD	
Glikemia na czczo [mmol/l]	22	4,88	1,07	118	4,8	0,88	54	4,20	0,42	<0,01* <0,001**
Glikemia po 2h OGTT [mmol/l]	22	9,81	3,04	110	9,03	2,02	53	5,61	1,07	<0,001* <0,001**
HbA1c [%]	22	5,3	0,62	142	5,13	0,54	47	4,85	0,44	<0,05* <0,05**
Peptyd C, [ng/ml]	18	2,12	0,97	111	2,39	1,08	19	2,54	0,85	NS

*- grupa 1a vs grupa 3a

**- grupa 2 vs grupa 3a

W porównaniu grup 1b, 2 i 3a stwierdzono statystycznie istotne różnice między grupami 1b i 3a w zakresie średniej glikemii na czczo (5,41±1,20 vs 4,2±0,42 mmol/l, p<0,001), średniej glikemii w 2. godzinie testu OGTT (8,39±2,08 vs 5,61±1,07 mmol/l, p<0,001) oraz średniego odsetka HbA1c (5,98±0,96 vs 4,85±0,44%, p<0,001) oraz między grupami 1b i 2 w zakresie średniego odsetka HbA1c (5,98±0,96 vs 5,13±0,54%, p<0,05). Ponadto stwierdzono statystycznie istotnie niższe stężenie peptydu C w grupie

1b w stosunku do grupy 3a (1,36±0,34 vs 2,54±0,85 ng/ml, p<0,05). Wyniki zestawiono w tabeli 15.

Tabela 15. Porównanie parametrów gospodarki węglowodanowej w grupach 1b, 2 i 3a

	Grupa 1b N=10			**Grupa 2 N=149**			**Grupa 3a N=54**			P
	n	$\bar{x}$	SD	n	$\bar{x}$	SD	n	$\bar{x}$	SD	
Glikemia na czczo [mmol/l]	7	5,41	1,2	118	4,8	0,88	54	4,20	0,42	<0,001* <0,001**
Glikemia po 2h OGTT [mmol/l]	5	8,39	2,08	110	9,03	2,02	53	5,61	1,07	<0,05* <0,001**
HbA1c [%]	10	5,98	0,96	142	5,13	0,54	47	4,85	0,44	<0,001* <0,01** <0,05***
Peptyd C [ng/ml]	4	1,36	0,34	111	2,39	1,08	19	2,54	0,85	<0,05*

*- grupa 1b vs grupa 3a

**- grupa 2 vs grupa 3a

***- grupa 1b vs grupa 2

Powyższe wyniki wskazują, iż pacjentki z obecnymi przeciwciałami wykazują większego stopnia zaburzenia gospodarki węglowodanowej w stosunku do pozostałych ciężarnych. Różnice te szczególnie wyrażone są w grupie z obecnym więcej niż jednym typem przeciwciał.

5.6. Porównanie cech klinicznych i biochemicznych u pacjentek z cukrzycą ciężarnych i obecnym jednym typem przeciwciał oraz pacjentek z obecnym więcej niż jednym typem przeciwciał przeciwko antygenom wysp trzustkowych

W tabeli 16 przedstawiono porównanie pacjentek z grupy 1a i 1b. W grupie 1b przyrost wagi w ciąży był statystycznie istotnie mniejszy niż w grupie 1a (12,36±6,59 vs 7,87±2,43kg, $p<0,05$), a pacjentki były istotnie wyższe niż w grupie 1a (162,34±6,35 vs 168±1,14cm, $p<0,05$). Ponadto ciężarne z grupy 1b były nieco młodsze i zgłaszały się do Poradni Cukrzycowej prawie o 4 tygodnie wcześniej od ciężarnych z grupy 1a, miały wyższe średnie stężenie TSH, a także częściej miały dodatni wywiad rodzinny w kierunku cukrzycy. Różnice te jednak nie osiągnęły poziomu istotności statystycznej.

Tabela 16. Porównanie kliniczne grupy 1a i 1b

	Grupa 1a N=24			**Grupa 1b N=10**			p
	n	$\bar{x}$	SD	n	$\bar{x}$	SD	
Wiek [lata]	24	31,4	5,46	10	29	5,20	NS
Tyg.ciąży [tyg.]	24	27,25	5,58	10	23,4	6,14	NS
BMI p.c [kg/m2]	18	24,42	4,15	8	23,43	5,66	<0,05
Wzrost [cm]	23	162,3	6,35	9	168	1,14	<0,05
Przyrost m.c [kg]	19	12,36	6,59	8	7,87	2,43	<0,05
CTKs [mmHg]	24	119,4	10,3	9	115,4	16,3	NS
CTKr [mmHg]	24	75,91	7,32	9	77,55	11,49	NS
TSH [uIU/ml]	22	2,12	1,81	7	3,03	4,32	NS
Cukrzyca w rodzinie [%]	6	26,09%		5	55,56%		NS
Pierworódki [%]	7	29,1%		4	40%		NS

Porównując średnie wartości parametrów lipidowych w grupie 1a i 1b (Tabela 17) stwierdzono statystycznie istotnie niższe stężenie HDL-cholesterolu w grupie 1b (1,65±0,93 vs 0,93±0,49 mmol/l, p<0,01). W obu grupach średnie wartości HDL-cholesterolu były w granicach normy. W grupie 1b średnie stężenie triglicerydów znajdowało się w granicach normy, w grupie 1a było podniesione. Z kolei średnie stężenie LDL-cholesterolu w grupie 1b przekraczało normę, w grupie 1a było prawidłowe. Obie te różnice nie były znamienne statystycznie.

Tabela 17. Porównanie parametrów gospodarki lipidowej w grupie 1a i 1b

	Grupa 1a N=24			**Grupa 1b N=10**			p
	n	$\bar{x}$	SD	n	$\bar{x}$	SD	
TC [mmol/l]	22	6,02	1,40	10	5,86	0,93	NS
LDL [mmol/l]	22	3,23	1,17	10	4,00	1,09	NS
HDL [mmol/l]	22	1,65	0,93	10	0,93	0,49	<0,01
TG [mmol/l]	22	2,49	0,73	10	1,98	0,70	NS

Porównując grupę 1a i 1b pod względem parametrów gospodarki węglowodanowej nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w zakresie glikemii w trakcie testu OGTT (Tabela 18). Zwracało jednak uwagę wyższe średnie stężenie glikemii na czczo w grupie 1b w porównaniu z grupą 1a. Nieoczekiwanym wynikiem było niższe średnie stężenie glikemii w 2. godzinie OGTT w grupie 1b w stosunku do grupy 1a. Pacjentki w grupie 1b miały statystycznie istotny wyższy odsetek HbA1c w stosunku do grupy 1a (5,3±0,62 vs 5,98±2,37%, p<0,05). Ponadto w grupie 1b

stwierdzono niższe średnie stężenie peptydu C, co nie osiągnęło poziomu istotności statystycznej.

Tabela 18. Porównanie parametrów gospodarki węglowodanowej w grupie 1a i 1b

	Grupa 1a N=24			Grupa 1b N=10			p
	n	$\bar{x}$	SD	n	$\bar{x}$	SD	
Glikemia na czczo [mmol/l]	22	4,88	1,07	7	5,41	1,2	NS
Glikemia po 2h OGTT [mmol/l]	22	9,81	3,04	5	8,39	2,08	NS
HbA1c [%]	22	5,3	0,62	10	5,98	0,96	<0,05
Peptyd C [ng/ml]	18	2,12	0,97	4	1,36	0,34	NS

Powyższe wyniki wskazują, iż pacjentki z obecnym więcej niż jednym typem przeciwciał, w porównaniu do badanych z jednym typem przeciwciał, cechuje niższa masa ciała, mniejszy przyrost masy ciała w ciąży, niższe stężenie HDL-cholesterolu oraz prawidłowe stężenie triglicerydów. W zakresie gospodarki węglowodanowej obserwowano w tej grupie wyższe glikemie na czczo, wyższy odsetek HbA1c oraz niższe stężenie peptydu C.

5.7. Ocena niezależnych czynników ryzyka cukrzycy autoimmunizacyjnej w grupie kobiet z cukrzycą ciężarnych

Analiza regresji, w której obliczono iloraz szans (OR) wraz z 95% przedziałem ufności celem identyfikacji niezależnych czynników ryzyka obecności przeciwciał u pacjentek z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych, wykazała wzrost ryzyka rozwoju GDMAb+ 2,43 razy przy wzroście HbA1c o 1% oraz wzrost ryzyka o 7% przy wzroście przyrostu wagi ciała o 1kg. Nie stwierdzono natomiast związku z pozostałymi badanymi cechami. Wyniki przedstawiono w tabeli 19.

Tabela 19. Charakterystyka grupy o zwiększonym ryzyku cukrzycy autoimmunizacyjnej w grupie pacjentek z cukrzycą ciężarnych z obecnym jednym typem przeciwciał

	p	OR	95% CL
Wiek [lata]	NS	1,01	0,94- 1,09
Wieloródki	NS	1,37	0,61- 3,03
Tydzień ciąży	NS	0,98	0,92- 1,04
Klasa G/B	NS	1,51	0,70- 3,25
Cukrzyca w rodzinie	NS	1,56	0,69- 3,46
CTKs [mmHg]	NS	0,99	0,96- 1,02
CTKr [mmHg]	NS	1,00	0,96- 1,05
Wzrost [cm]	NS	1,01	0,95- 1,07
Przyrost wagi w ciąży [kg]	<0,05	1,07	1,00- 1,14
BMI [kg/m2]	NS	0,99	0,90- 1,08
Glukoza na czczo [mmol/l]	NS	1,24	0,82- 1,88
Glukoza w 2 godzinie OGTT [mmol/l]	NS	1,10	0,91- 1,32
HbA1c [%]	<0,01	2,43	1,34- 4,41
TSH [uIU/ml]	NS	1,19	0,94- 1,52
TC [mmol/l]	NS	0,72	0,52- 1,01
TG [mmol/l]	NS	0,83	0,52- 1,33
HDL [mmol/l]	NS	0,62	0,37- 1,06
LDL [mmol/l]	NS	0,86	0,60- 1,22

Przeprowadzono również analizę regresji celem identyfikacji niezależnych czynników ryzyka obecności więcej niż jednego typu przeciwciał przeciwko antygenom wysp trzustkowych. Wyniki przedstawiono w tabeli 20.

Tabela 20. Charakterystyka grupy o zwiększonym ryzyku cukrzycy autoimmunizacyjnej w grupie pacjentek z cukrzycą ciężarnych z obecnym więcej niż jednym typem przeciwciał

	p	OR	95% CL
Wiek [lata]	NS	0,94	0,82- 1,08
Pierworódki	NS	0,98	0,26- 3,64
Tydzień ciąży [tygodnie]	0,09	0,92	0,84-1,01
Klasa G/B	<0,05	8,41	1,02-69,2
Cukrzyca w rodzinie	NS	0,65	0,16-2,54
CTKs [mmHg]	NS	0,97	0,92- 1,03
CTKr [mmHg]	NS	1,02	0,94- 1,11
Wzrost [cm]	<0,05	1,11	1,00- 1,23
Przyrost wagi w ciąży [kg]	NS	0,98	0,88- 1,10
BMI [kg/m2]	NS	0,96	0,82- 1,13
Glukoza na czczo [mmol/l]	0,09	1,70	0,89- 3,23
Glukoza w 2 godzinie OGTT [mmol/l]	NS	0,84	0,52- 1,35
HbA1c [%]	<0,001	4,71	1,97- 11,24
TSH [uIU/ml]	0,08	1,32	0,96- 1,81
TC [mmol/l]	NS	0,65	0,36- 1,16
TG [mmol/l]	0,09	0,45	0,17- 1,15
HDL [mmol/l]	<0,01	0,21	0,07- 0,66
LDL [mmol/l]	NS	1,31	0,74- 2,33
Peptyd C [ng/ml]	0,07	0,21	0,04-1,14

Wykazano ponad 8-krotny wzrost ryzyka obecności kilku rodzajów przeciwciał w przypadku konieczności stosowania w ciąży insuliny oraz niemal 5-krotny wzrost

ryzyka obecności kilku rodzajów przeciwciał przy wzroście HbA1c o 1%. Stwierdzono także 75% wzrost ryzyka przy spadku stężenia HDL-cholesterolu o 1mmol/l.

Powyższe wyniki wskazują, iż konieczność stosowania u pacjentek z cukrzycą ciężarnych insuliny, wyższy odsetek HbA1c jak również niskie stężenie HDL-cholesterolu mogą być czynnikami wskazującymi na możliwość obecności przeciwciał.

5.8. Ocena kliniczna ciężarnych z wykluczoną cukrzycą ciężarnych i obecnymi przeciwciałami przeciwko antygenom wysp trzustkowych

Do analizy włączono ciężarne, u których mimo prawidłowego wyniku testu diagnostycznego w kierunku cukrzycy ciężarnych, stwierdzono obecność przeciwciał przeciwko antygenom wysp trzustkowych. Były to ciężarne w średnim wieku 30,1 lat, z prawidłowym ciśnieniem, oraz stężeniem TSH. Średnie stężenie glikemii w trakcie OGTT oraz HbA1c również znajdowało się w normie.

Porównano również grupę 1 z grupą 3b pod względem badanych cech klinicznych. Obie grupy nie różniły się istotnie w zakresie badanych cech.

W obu grupach nie stwierdzono także statystycznie istotnych różnic w zakresie parametrów gospodarki lipidowej.

Zgodnie z oczekiwaniami w grupie 1 stwierdzono statystycznie istotnie wyższe wartości średniej glikemii na czczo (5,01±1,10 vs 4,09±0,32 mmol/l, $p<0,001$), średniej glikemii w 2 godzinie OGTT (9,55±2,9 vs 5,81±0,87 mmol/l, $p<0,001$) oraz wyższy średni odsetek HbA1c (5,51±0,79 vs 1,59±0,66%, $p<0,001$). Zaskakującym wynikiem było niższe średnie stężenie peptydu C w grupie 3b w porównaniu z grupą 1 (1,98±0,93 vs 1,59±0,66 ng/ml), co nie osiągnęło poziomu istotności statystycznej (Tabela 21).

Tabela 21. Porównanie parametrów gospodarki węglowodanowej w grupie 1 i 3b

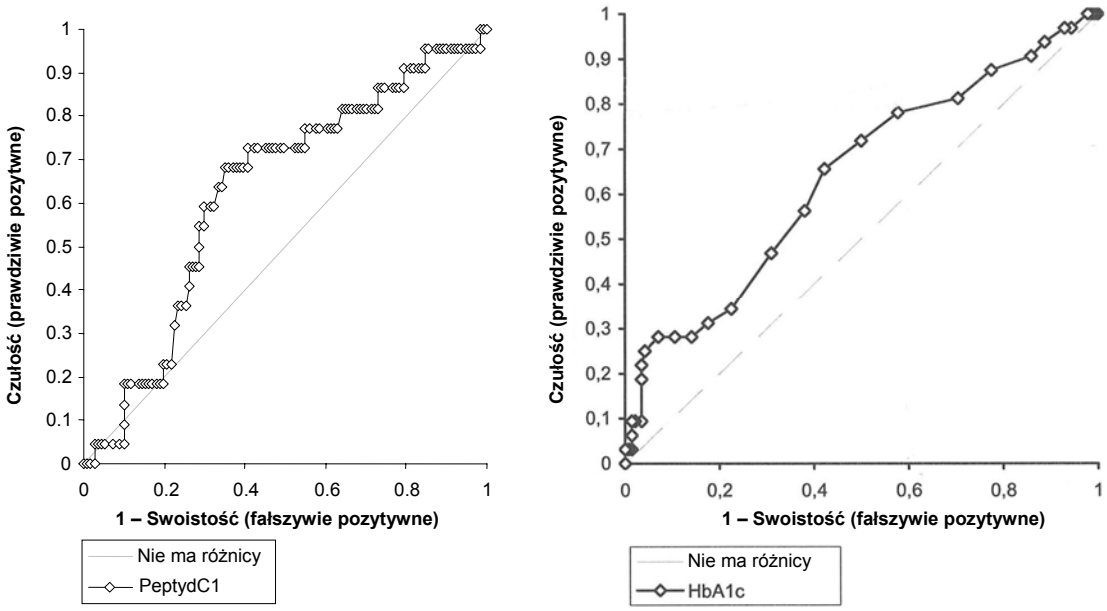
	Grupa 1 N=34			Grupa 3b N=9			p
	n	$\bar{x}$	SD	n	$\bar{x}$	SD	
Glikemia na czczo [mmo l/l]	29	5,01	1,10	9	4,09	0,32	<0,001
Glikemia po 2h OGTT [mmol/l]	27	9,55	2,9	9	5,81	0,87	<0,001
HbA1c [%]	32	5,51	0,79	7	4,88	0,23	<0,001
Peptyd C [ng/ml]	22	1,98	0,93	5	1,59	0,66	NS

Powyższe wyniki wskazują, mimo iż nie uzyskano znamiennej różnicy, że u pacjentek, u których wykluczono cukrzycę ciężarnych, a u których stwierdzono obecność przeciwciał, można liczyć się z obniżonymi rezerwami wydzielania insuliny, ocenianymi stężeniem peptydu C.

5.9. Związek pomiędzy obecnością przeciwciał w grupie pacjentek z cukrzycą ciężarnych a odsetkiem HbA1c i stężeniem peptydu C

Obliczono również krzywą ROC celem oceny związku pomiędzy obecnością przeciwciał w grupie GDM a odsetkiem HbA1c i stężeniem peptydu C. Wyznaczono wartości krytyczne stężenia peptydu C i HbA1c dla obecności przeciwciał (Rycina 12).

Rycina 12 Związek pomiędzy obecnością przeciwciał w grupie GDM a odsetkiem HbA1c i stężeniem peptydu C



Parametr	Punkt odcięcia	Czułość (%)	Swoistość (%)	PPV (%)	OR (95%CI)
HbA1c (%)	≥4,9	78%	42%	23%	2,6 (1,05; 6,48)
Peptyd C (ng/ml)	<2,09	68%	60%	25%	3,26 (1,22; 8,72)

Dla odsetka HbA1c przynajmniej 4,9% ryzyko obecności przeciwciał było 2,5 krotnie większe, natomiast stężenie peptydu C poniżej 2,09 ng/ml wiązało się z ryzykiem obecności przeciwciał ponad 3-krotnie wyższym.

Powyższe wyniki sugerują iż ryzyko obecności przeciwciał u pacjentek z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych rośnie już przy odsetku HbA1c znajdującym się w zakresie uważanym za wyrównanie metaboliczne oraz przy stężeniu peptydu C będącym w normie.

6. Dyskusja

Obecność przeciwciał przeciwko antygenom wysp trzustkowych w ciąży powikłanej cukrzycą jest silnym czynnikiem ryzyka rozwoju w przyszłości cukrzycy typu 1. W pracy określono częstość występowania przeciwciał w populacji pacjentek z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych a także w grupie pacjentek z dodatnim wynikiem testu przesiewowego, ale prawidłowym wynikiem testu diagnostycznego oraz w grupie ciężarnych, u których wykluczono cukrzycę ciężarnych jedynie na podstawie testu diagnostycznego. Przedstawiono także charakterystykę ciężarnych, zagrożonych rozwojem cukrzycy typu 1. Podjęto próbę wskazania niezależnych czynników ryzyka obecności przeciwciał celem identyfikacji tych ciężarnych, u których oznaczenie przeciwciał należałoby zalecać jako rutynowe postępowanie.

W przebadanej grupie 247 ciężarnych 74,1 % stanowiły pacjentki z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych, z czego 46,4% ciężarnych leczonych było wyłącznie dietą, 53,6% dietą i insuliną. Grupę, u której wykluczono cukrzycę ciężarnych stanowiły 63 (25,9%) ciężarne, z czego 81% miało dodatni wynik testu przesiewowego. Obecność przeciwciał stwierdzono u 18,6% pacjentek z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych oraz u 17,3% pacjentek z nieprawidłowym wynikiem testu przesiewowego. Ciężarne z nieprawidłowym wynikiem testu przesiewowego stanowią ostatnio przedmiot dużego zainteresowania wśród diabetologów, gdyż każdy stopień zaburzeń węglowodanowych niesie za sobą ryzyko powikłań okołoporodowych. Praca ta jest pierwszą przedstawiającą częstość występowania przeciwciał w tej grupie chorych. Wskazuje ona na podobną częstość zagrożenia rozwojem cukrzycy typu 1 jak w grupie pacjentek z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych. Pokazuje także pewien stopień niedoskonałości testu z obciążeniem 75 g glukozy jako postępowania diagnostycznego w celu rozpoznania

cukrzycy ciężarnych. Wydaje się, że pacjentki z nieprawidłowym wynikiem testu przesiewowego powinny również podlegać obserwacji diabetologicznej.

6.1. Częstość występowania przeciwciał przeciw antygenom wysp trzustkowych u pacjentek z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych

Cukrzyca ciężarnych jest predyktorem wystąpienia w przyszłości cukrzycy. Większość przypadków to rozwijająca się cukrzyca typu 2 [126]. Istnieje jednak grupa pacjentek zagrożona rozwojem cukrzycy typu 1. Spostrzeżenie to pojawiło się po raz pierwszy w badaniach Buscharda i wsp. Zwrócono wówczas uwagę, że u dużej grupy pacjentek z cukrzycą typu 1 pierwsza manifestacja choroby pojawiała się podczas ciąży właśnie w postaci cukrzycy ciężarnych [99]. Kolejne badania wykazały, że obecność dwóch lub więcej przeciwciał przeciwko antygenom wysp trzustkowych (GADA, IA-2A, ICA lub IAA) jest silnym predyktorem wystąpienia w przyszłości cukrzycy typu 1 u krewnych pierwszego stopnia [73,83] oraz u pacjentek z cukrzycą ciężarnych [106].

W pracy podjęto szczegółowe badanie nad chorymi z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych celem określenia częstości występowania przeciwciał GADA, IA-2A oraz ICA, a także celem scharakteryzowania klinicznego pacjentek z autoimmunizacyjną cukrzycą ciężarnych. W grupie 183 ciężarnych z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych częstość występowania przeciwciał oceniono na poziomie 18,6%. Podobną częstość występowania przeciwciał stwierdzono w badaniach populacji niemieckiej (18,1%) [106]. Obecność przeciwciał notowano częściej w grupie pacjentek leczonych insuliną, GDM G/B (21,43%) w porównaniu do pacjentek leczonych wyłącznie dietą, GDM G/A (15,29%), co jest zgodne z wynikami wcześniejszych badań [106,115,127].

Najczęstszym stwierdzanym rodzajem przeciwciał były GADA (16,9%), następnie ICA (4,4%) i IA-2A (3,8%). Jest to ważne spostrzeżenie w kontekście wcześniejszych obserwacji, w których zwrócono uwagę na krótszy okres remisji, w którym nie wymagana jest insulina u pacjentów, u których stwierdza się obecność GADA (mediana – 6 miesięcy) w stosunku do pacjentów u których nie wykazuje się obecności GADA (mediana – 30 miesięcy) [105]. Z kolei w innym badaniu wykazano [106], że przeciwciała GADA wykazują najwyższą czułość (63%) w identyfikowaniu pacjentek zagrożonych rozwojem cukrzycy typu 1. W momencie oznaczenia dwóch rodzajów przeciwciał (GADA i IA-2A) czułość testu wzrasta do 74% [106]. Ryzyko rozwoju cukrzycy typu 1 w okresie dwóch lat od porodu rośnie wraz z ilością obecnych typów przeciwciał w momencie porodu [106]. Przy obecności jednego rodzaju przeciwciał ryzyko wynosi 17%, dla obecnych dwóch typów przeciwciał wynosi już 61% i przy obecności trzech typów przeciwciał – 84% [106]. W naszym badaniu 13,1% pacjentek z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych miało obecny tylko jeden rodzaj przeciwciał, 5,46 % więcej niż jeden typ. Ponadto w grupie leczonej insuliną częściej obserwowano obecność przeciwciał w stosunku do grupy leczonej wyłącznie dietą (21,43% vs 15,29%) i dotyczyło to więcej niż jednego typu przeciwciała (9,18% vs 1,18%). W badaniu stwierdzono również, że konieczność stosowania w ciąży insuliny, która jest odbiciem ciężkości zaburzeń węglowodanowych, jest niezależnym czynnikiem ryzyka obecności przeciwciał, a przynależność do klasy GDM G/B zwiększa to ryzyko niemal 8,5-krotnie, co jest zgodne z wcześniejszymi obserwacjami [106,107,113]. Warto zwrócić uwagę, że 91,1% ciężarnych, u których stwierdzano obecność przeciwciał miało obecne GADA, 23,5% ICA, 20,6% IA-2A. W świetle powyższych wyników i przedstawionych danych z piśmiennictwa w grupie GDM G/B co piąta pacjentka

znajduje się w grupie dużego ryzyka rozwoju cukrzycy typu 1, co dziesiąta ma istotne ryzyko rozwoju cukrzycy typu 1 w ciągu 2 lat.

6.2. Częstość występowania przeciwciał przeciw antygenom wysp trzustkowych u pacjentek z nieprawidłowym wynikiem testu przesiewowego

Przeciwciała w okresie ciąży są silnymi predyktorami rozwoju cukrzycy typu 1 w przyszłości, a dodatnie przeciwciała GADA mają największą czułość nawet wtedy gdy są wykrywane w ciąży bez cukrzycy [69,98,105,106,112,127-130]. W niniejszym badaniu dosyć nieoczekiwanym wynikiem w grupie z wykluczoną cukrzycą ciężarnych była stosunkowo wysoka częstość przeciwciał przeciw antygenom wysp trzustkowych (14,28%). Na podkreślenie zasługuje obserwacja, że wszystkie pacjentki z wykluczoną GDM, u których stwierdzono przeciwciała należały do grupy ciężarnych, które miały dodatni wynik testu przesiewowego w kierunku cukrzycy a prawidłowy wynik testu diagnostycznego. Częstość przeciwciał w tej grupie wynosiła 17,3%, co było wynikiem porównywalnym z klasą GDM G/A (15,29%). Wyniki te dobrze korespondują z wcześniejszymi obserwacjami, gdzie zwrócono uwagę na dużą częstość przeciwciał u kobiet z dyskretnym zaburzeniami węglowodanowymi w ciąży (grupy określane czasem jako „nieprawidłowa tolerancja glukozy"- IGT, ang. impaired glucose tolerance). W badaniach Dozio i wsp. częstość przeciwciał ICA wynosiła 6%, podczas gdy innych przeciwciał nie zaobserwowano [108]. Nieco odmienne wyniki przedstawiono w badaniach włoskich [115], gdzie częstość przeciwciał w grupie IGT była dwukrotnie wyższa niż w grupie GDM (17,9% vs 8,9%). W niniejszym badaniu najczęstszymi, stwierdzanymi przeciwciałami były GADA (u 88,8% ciężarnych), u

22,2% pacjentek stwierdzono obecność ICA. Obecności przeciwciał IA-2A nie stwierdzono w tej grupie chorych, co nie było zaskoczeniem gdyż uważa się, że przeciwciała IA-2A związane są z gwałtownym uszkodzeniem komórek beta wysp trzustkowych i mogą służyć jako marker poprzedzający bezpośrednio cukrzycę typu 1 [83,131]. W świetle tej obserwacji oraz faktu wystąpienia w ciąży bardzo dyskretnych zaburzeń węglowodanowych, można przypuszczać, że toczący się proces autoimmunizacyjny został wykryty nieco wcześniej w porównaniu z pacjentkami z GDM, ale wymaga to jeszcze dalszych badań. Informacja ta może nabrać istotnego znaczenia w momencie wprowadzenia programów prewencyjnych. Na uwagę zasługuje też fakt, że podobnie jak w innych badaniach [107,115], u większości pacjentek (89%) stwierdzano obecność wyłącznie przeciwciała jednego typu. Istotna jest również informacja, że w grupie ciężarnych, które miały jako jedyny wykonany test diagnostyczny i miały wynik prawidłowy nie stwierdzono obecności przeciwciał. Koresponduje to z wcześniejszymi obserwacjami, gdzie częstość przeciwciał w grupie kontrolnej pacjentek ciężarnych była bardzo niska, porównywalna do częstości przeciwciał w populacji ogólnej [53,60,73,107,115].

W świetle powyższych informacji wydaje się celowa prospektywna opieka nad kobietami ciężarnymi, które mają nawet niewielkiego stopnia zaburzenia węglowodanowe np. wyrażone testem przesiewowym, gdyż u części pacjentek mogą być one zwiastunem cukrzycy typu 1.

6.3. Charakterystyka pacjentek z autoimmunizacyjną cukrzycą ciężarnych

W kilku badaniach wykazano odmienne cechy kliniczne pacjentek z obecnymi przeciwciałami [106,111,115,129]. W obecnym badaniu pacjentki z obecnymi przeciwciałami były podobne pod względem wieku, BMI przed ciążą, średniego ciśnienia tętniczego, wywiadu rodzinnego oraz ilości ciąż w stosunku do pozostałych pacjentek z cukrzycą ciężarnych i grupy z wykluczoną cukrzycą cieżarnych. Zgłaszały się również do lekarza w podobnym zaawansowaniu ciąży. W grupie pacjentek z obecnymi przeciwciałami wyodrębniono grupę posiadającą więcej niż jeden typ przeciwciał. Grupa ta wyraźnie różniła się w stosunku do pozostałych pacjentek z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych zarówno pod względem cech klinicznych jak i biochemicznych. W zakresie badanych cech klinicznych nie uzyskano poziomu istotności statystycznej, co mogło być spowodowane zbyt małą liczebnością tej grupy chorych. Zwraca jednak uwagę, wcześniejsze zgłaszanie się pacjentek z tej grupy do lekarza diabetologa, średnio w 23,4 tygodniu ciąży, a więc wcześniej w stosunku do zalecanego terminu wykonania testu OGTT [6]. Ponadto pacjentki te były szczuplejsze przed ciążą i miały mniejszy przyrost wagi w ciąży. Badania innych autorów potwierdzają tę obserwację [106,129].

W zakresie gospodarki lipidowej w całej grupie pacjentek posiadających przeciwciała obserwowano niskie średnie wartości cholesterolu całkowitego, triglicerydów oraz HDL-cholesterolu. Szczególnie niskie wartości, zwłaszcza triglicerydów i HDL-cholesterolu, obserwowano w grupie posiadającej więcej niż jeden typ przeciwciał. Wyniki te nie odpowiadają więc typowym dla prawidłowej ciąży, w której stwierdza się fizjologiczny wzrost triglicerydów, co więcej kilku badaczy

wskazuje nawet, że hipertriglicerydemia jest wręcz cechą typową cukrzycy ciężarnych [27-29]. Wyniki niniejszego badania mogą więc świadczyć o innych niż insulinooporność przyczynach hiperglikemii w tej grupie chorych, np. zmniejszonych rezerwach wydzielania insuliny spowodowanych toczącym się procesem autoimmunizacyjnym, ale wymaga to jeszcze dalszych badań. W niniejszym badaniu wykazano, że niskie stężenie HDL-cholesterolu jest niezależnym czynnikiem ryzyka obecności kilku rodzajów przeciwciał i każdy spadek stężenia o 1 mmol/l zwiększa to ryzyko o 80%.

Zgodnie z oczekiwaniami, pacjentki z obecnymi przeciwciałami charakteryzowały się wyższą glikemią na czczo, wyższą glikemią w 2. godzinie OGTT, wyższą HbA1c i niższym stężeniem peptydu C w porównaniu do pacjentek z cukrzycą ciężarnych, u których nie stwierdzono obecności przeciwciał, co pozostaje w zgodności z innym badaniem [114]. Średnie stężenie glikemii na czczo w grupie z obecnymi przeciwciałami wynosiło 5 mmol/l, w tym w grupie z obecnym więcej niż jednym typem przeciwciał 5,4 mmol/l, podczas gdy w grupie z nieautoimmunizacyjną GDM średnie glikemie na czczo wynosiły 4,8, a w grupie zdrowych ciężarnych 4,2 mmol/l. W badaniach Catalano i wsp. [132] obserwowano w grupie zdrowych ciężarnych systematyczny spadek glikemii na czczo w miarę trwania ciąży. Na początku ciąży średnie glikemie nie przekraczały 5,2 mmol/l, pod koniec ciąży 4,7 mmol/l [132]. Wg hipotezy Eisenbartha w przebiegu naturalnym cukrzycy typu 1 pierwsze pojawia się zaburzenie tolerancji glukozy, później nieprawidłowa glikemia na czczo [34]. Można więc przypuszczać, że na fizjologiczną insulinooporność związaną z ciążą u pacjentek z autoimmunizacyjną cukrzycą ciężarnych nakładają się inne zaburzenia np. związane z uszkodzeniem trzustki, które mogą ujawniać się w postaci wyższych, choć jeszcze prawidłowych stężeń glikemii w porównaniu do pozostałych grup. Niższe średnie

glikemie poobciążeniowe w grupie z więcej niż jednym typem przeciwciał w stosunku do grupy z obecnym jednym typem przeciwciał mogły wynikać ze zbyt małej liczebności grupy chorych poddanych analizie, gdyż 50% pacjentek z tej grupy spełniło kryterium rozpoznania cukrzycy ciężarnych wyłącznie na podstawie glikemii na czczo lub na podstawie testu przesiewowego.

O bardziej nasilonych zaburzeniach metabolicznych w grupie z autoimmunizacyjną cukrzycą ciężarnych świadczy również gorsze wyrównanie metaboliczne w momencie rozpoznania cukrzycy. Średni odsetek HbA1c wynosił w tej grupie 5,51%, podczas gdy w grupie GDM i grupie z wykluczoną GDM odpowiednio 5,13% i 4,85%. Gorsze wyrównanie było szczególnie wyrażone w grupie posiadającej więcej niż jeden typ przeciwciał, a średni odsetek HbA1c wynosił w niej prawie 6%. Ponadto stwierdzono prawie trzykrotny wzrost ryzyka obecności przeciwciał dla odsetka HbA1c przynajmniej 4,9%. Wykazano również, że odsetek HbA1c jest niezależnym czynnikiem ryzyka obecności przeciwciał i każdy wzrost o 1% zwiększa ryzyko 2,5-krotnie. Stwierdzono również, że odsetek HbA1c jest niezależnym czynnikiem obecności kilku typów przeciwciał i każdy wzrost odsetka HbA1c o 1% zwiększa ryzyko niemal pięciokrotnie.

O innym charakterze zaburzeń metabolicznych niż w nieautoimmunizacyjnej cukrzycy ciężarnych, świadczą również niższe średnie stężenia peptydu C w tej grupie pacjentek. Szczególnie niskie stężenie peptydu C obserwowane było w grupie z więcej niż jednym rodzajem przeciwciał (1,36 ng/ml), co również przemawia za toczącym się autoimmunizacyjnym mechanizmem uszkodzenia wysp trzustkowych. W obecnym badaniu wykazano również, że spadek stężenia peptydu C poniżej 2,09 ng/ml zwiększa trzykrotnie ryzyko obecności przeciwciał. Dane te mogą świadczyć o niższych rezerwach wydzielania insuliny u pacjentek z autoimmunizacyjną cukrzycą ciężarnych.

Obserwacje te są zgodne z badaniami Bo i wsp. [115], w których u pacjentek z autoimmunizacyjną cukrzycą ciężarnych zaobserwowano statystycznie istotne mniejsze stężenie insuliny na czczo w stosunku do pozostałych pacjentek z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych.

6.4. Opieka nad pacjentkami zagrożonymi rozwojem cukrzycy typu 1

O ile istnieje ogólny konsensus w sprawie konieczności aktywnego poszukiwania GDM, o tyle kryteria i sposób diagnostyki GDM budzi obecnie wiele kontrowersji [7,133]. Zwraca się uwagę na konieczność ujednolicenia kryteriów rozpoznania cukrzycy ciężarnych. W obecnym badaniu zwrócono uwagę na grupę pacjentek, która miała nieprawidłowy wynik testu przesiewowego, a prawidłowy wynik testu diagnostycznego w kierunku cukrzycy. W grupie tej odsetek pacjentek, u których wykazano obecność przeciwciał przeciwko antygenom wysp trzustkowych, był porównywalny z grupą pacjentek chorych na cukrzycę ciężarnych, podczas gdy w grupie ciężarnych u których wykonano jedynie test diagnostyczny i wyniki były prawidłowe, nie stwierdzono obecności przeciwciał. Wydaje się, że zarówno test przesiewowy jak i diagnostyczny pozwalają na wskazanie różnych grup pacjentek. Obserwacje te są zbieżne z wynikami innych badań [134-139]. Zwraca się także uwagę na zwiększone ryzyko powikłań okołoporodowych w tym szczególnie makrosomii u ciężarnych, u których stwierdzono dodatni wynik testu przesiewowego a prawidłowy wynik testu diagnostycznego, a także w grupie ciężarnych, które w teście diagnostycznym spełniały kryterium IGT wg WHO [134-139]. Odpowiedzi na pytanie o sposób diagnostyki cukrzycy ciężarnych należy szukać także w jeszcze nieopublikowanych wynikach badania HAPO [http://medpagetoday.com]. W badaniu potwierdzono, iż zależność między stężeniem glikemii a ryzykiem powikłań

okołoporodowych jest obecna nawet przy wartościach glikemii, które według obecnych kryteriów nie spełniają kryteriów rozpoznania cukrzycy ciężarnych. Wyniki niniejszej pracy stanowią również przyczynek do dyskusji czy stosować jedno- czy dwuetapową diagnostykę cukrzycy ciężarnych. PTD dopuszcza obie możliwości, ale wydaje się, że należy dążyć do wykonania, jeśli to możliwe, jednoczasowej diagnostyki testem diagnostycznym. Idąc dalej, być może konsensusem w sprawie ujednolicenia kryteriów, byłoby oznaczanie glikemii w trakcie obciążenia 75 g glukozy również po godzinie, ale wymaga to jeszcze dalszych badań.

W świetle powyższych wyników oraz danych z piśmiennictwa wydaje się celowe ukierunkowanie opieki nad pacjentkami z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych na aktywne poszukiwanie autoimmunizacyjnej postaci cukrzycy ciężarnych. Opieka mogłaby obejmować pacjentki znajdujące się w grupie ryzyka obecności przeciwciał (czynniki ryzyka przedstawiono w tabeli 22).

Tabela 22. Propozycja schematu oceny czynników ryzyka autoimmunizacyjnej cukrzycy ciężarnych u pacjentek z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych

Czynniki ryzyka autoimmunizacyjnej cukrzycy ciężarnych:
Klasa GDM G/B
Niskie stężenie HDL-cholesterolu
Brak typowej dla cukrzycy ciężarnych hipertriglicerydemii
HbA1c ≥4,9%
Peptyd C <2,09 ng/ml
Wyższe glikemie na czczo, wyższe wartości glikemii w 2 h OGTT
Mały przyrost masy ciała w ciąży
Rozpoznanie cukrzycy ciężarnych przed 24 tygodniem ciąży

Obserwacja powyższa dotyczy szczególnie pacjentek z klasy GDM G/B, u których obserwuje się gorsze wartości glikemii w momencie rozpoznanie choroby, wyższy odsetek HbA1c oraz brak fizjologicznej hipertriglicerydemii związanej z ciążą. U takich chorych należałoby rozważyć oznaczenie w pierwszej kolejności przeciwciał GADA, a następnie dopiero innych (IA-2A, ICA). Pacjentki zagrożone rozwojem cukrzycy typu 1 powinny być objęte szczególną opieką zarówno podczas ciąży jak i po porodzie. W przypadku obecności zaburzeń węglowodanowych po zakończeniu ciąży powinny być od początku leczone insuliną celem uniknięcia rozwoju ostrych powikłań cukrzycy w postaci kwasicy oraz być może ochrony endogennego wydzielania insuliny [140]. W przyszłości właśnie na tak wyselekcjonowanej grupie mogłyby być prowadzone badania interwencyjne celem spowolnienia lub zahamowania autoimmunizacyjnego uszkodzenia wysp trzustkowych.

7. Wnioski

Na podstawie uzyskanych danych sformułowano następujące wnioski:

1. Autoimmunizacyjna postać cukrzycy ciężarnych występuje u około co piątej (18,6%) pacjentki z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych.

2. Szczególnie narażone na autoimmunizacyjną cukrzycę ciężarnych są chore będące w klasie GDM G/B, z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych przed 24. tygodniem ciąży, szczupłe przed ciążą, mające niewielki przyrost masy ciała w ciąży, u których związana z ciążą fizjologiczna hipertrigliceryde mia jest mniej wyrażona, a stężenie cholesterolu HDL jest szczególnie niskie.

3. W przypadku podejrzenia autoimmunizacyjnej cukrzycy ciężarnych jako pierwsze przeciwciało powinno oznaczyć się GADA, jako ten rodzaj przeciwciał, który występuje najczęściej.

4. Rozwijająca się cukrzyca autoimmunizacyjna w okresie ciąży może manifestować się w postaci dyskretnych zaburzeń węglowodanowych, niewykrywalnych nawet przy zastosowaniu testu diagnostycznego. Dlatego każda nieprawidłowość gospodarki węglowodanowej w okresie ciąży wymaga czujności diabetologicznej.

5. Na podstawie zebranych wyników wydaje się celowe:

a) rozważenie badania przesiewowego przeciwciał przeciwko antygenom wysp trzustkowych u ciężarnych w grupach ryzyka,

b) objęcie opieką diabetologiczną kobiet z autoimmunizacyjną cukrzycą ciężarnych również po porodzie celem monitorowania rozwijających się zaburzeń węglowodanowych i wczesnego wdrożenia właściwego modelu leczenia,

c) położenie nacisku na wykonanie, o ile to możliwe, w poszukiwaniu cukrzycy ciężarnych od razu testu diagnostycznego z 75g glukozy oraz rozważenie

dalszych modyfikacji tego testu przez np. oznaczenie glikemii po 1. godzinie badania,

d) objęcie opieką diabetologiczną pacjentek, które miały dodatni wynik testu przesiewowego a prawidłowy testu diagnostycznego w kierunku cukrzycy ciężarnych.

8. Piśmiennictwo

1. Freinkel N. Of pregnancy and progeny. The Banting Lecture. Diabetes 1980; 29: 1023-1035.
2. Hod M, Jovanovic L, Di Renzo GC, de Leiva A, Langer O. Textbook of diabetes and pregnancy. History of diabetic pregnancy. United Kingdom 2003. 5-7.
3. O'Sullivan JB. Unsuspected asymptomatic diabetes in pregnancy. N. Engl. J. Med. 1961; 262: 1082-1085.
4. WHO Expert Committee On Diabetes Mellitus. Technical Report Series 646, World Health Organization, Geneva 1980.
5. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 2003; 26 (supl. 10): S5-S20.
6. Polskie Towarzystwo Diabetologiczne: Zalecenia kliniczne dotyczące postępowania u chorych na cukrzycę 2007. Diabetol. Prakt. 2007; 8 (supl. A): A41-A45.
7. American Diabetes Association: Gestational diabetes mellitus (Position Statement). Diabetes Care 2004; 27 (supl. 1): S88-S90.
8. Wójcikowski C, Królikowska B, Konarzewska J, Kanadys W, Drozdzal W, Olszewski J, Łukaszuk K. Częstotliwość cukrzycy ciężarnych (GDM) w Polsce w badaniach przesiewowych. Ginekol. Pol. 2002; 73: 811-816.
9. Buchanan TA, Xiang AH. Gestational diabetes mellitus. J. Clin. Invest. 2005; 115: 485-491.
10. Metzger BE, Coustan DR. Summary and recommendation of the Fourth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. The Organizing Committee. Diabetes Care 1998; 21 (supl.2): B161-B167.
11. World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complication: report a WHO consultation. Geneva 1999.
12. Hare JW, White P. Gestational diabetes mellitus and the White Classification. Diabetes Care 1980; 3: 394-396.

13. Alberti KGMM, Zimmet PZ (for the WHO Consultation). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1:Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of WHO consultation. Diabet. Med. 1998; 15:539-553.
14. HAPO Study Cooperative Research Group. The Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome (HAPO) Study. Int. J. Gynecol. Obstet. 2002;78:69-77.
15. Agarwal MM, Hughest PF, Punnose J, Ezimokhaki M. Fasting plasma glucose as screening test for gestational diabetes in multi-ethnic, high-risk population. Diabet. Med. 2000; 17: 720-726.
16. Yogev Y, Ben-Haroush A, Chen R, Rosenn B, Hod H, Langer O. Diurnal glycemic profile in obese and normal weight nondiabetic pregnant women. Am. J. Obstet. Gynecol.2004; 191: 949-953.
17. American Diabetes Association. Clinical Practise Recommendation 2005. Diabetes Care 2005; 28(supl. 1): Standards of Medical Care S4-S36.
18. Damm P, Kuhl P, Bertelsen A, Molsted-Pedersen L. Predictive factors for the development of diabetes in women with previous gestational diabetes mellitus. Am. J. Obstet. Gynecol. 1992; 167: 607-616.
19. O'Sullivan JB. Diabetes mellitus after GDM. Diabetes 1991; 40 (supl.2): 131-135.
20. Konarzewska J, Wójcikowski Cz. Ryzyko wystąpienia cukrzycy po ciąży powikłanej cukrzycą ciążową. Gin. Pol. 2004; 75: 754-759.
21. Amos AF, McCarty DJ, Zimmet P. The rising global burden of diabetes and its complication: estimates and projections to the year 2010. Diabet. Med. 1997; 14 (supl 5): S1-S85.
22. Ryan EA, Ennes L. Role of gestational hormones in the induction of insulin resistence. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1988; 67: 341-347.
23. Catalano PM, Drago NM, Amini SB. Longitudinal changes in pancreatic b cell function and metabolic clearance rate of insulin in pregnant women with normal and abnormal glucose tolerance. Diabetes Care 1998; 21: 403-408.
24. Cowett RA, Susa JB, Kahn CB, Giletti B, Oh W, Schwartz R. Glucose kinetics in nondiabetic and diabetic women during the third trimester of pregnancy. Am. J. Obstet. Gynecol. 1983; 146: 773-780.
25. Catalano PM, Tyzbir ED, Wolfe RR, Roman NM, Amini SB, Sims EA. Longitudinal changes in basal hepatic glucose production and suppression

during insulin infusion in normal pregnant women. Am. J. Ostet. Gynecol. 1992; 167: 913-919.

26. Knopp RH, Humphrey J, Irvin S. Biphasic metabolic control of hypertriglyceridemia in pregnancy. Clin. Res. 177; 25: 161A.
27. Knopp RH, Magee MS, Walden CE, Bonet B, Benedetti TJ. Prediction of infant birth weight by GDM screening test. Importance of plasma triglyceride. Diabetes Care 1992; 15: 1605-1613.
28. Couch SC, Philipson EH, Bendel RB, Pujda LM, Milvae RA, Lammi-Keefe CJ, Elevates lipoprotein lipids and gestational hormones in women with diet treated gestational diabetes mellitus compared to healthy pregnant controls. J. Diabetes Complication 1998; 12: 1-9.
29. Couch SC, Philipson EH, Bendel RB, Wijendran V, Lammi-Keefe CJ. Maternal and cord plasma lipid and lipoprotein concentration in women with and without gestational diabetes mellitus. Predictors of birth weight? J. Reprod. Med. 1998; 43: 816-822.
30. Gil-Campos M, Canete R, Gil A. Hormones regulating lipid metabolism and lipids in childhood obesity. Intern. J. Obesity 2004; 28: S75-S80.
31. Dinneen S, Alzaid A, Turk D, Rizza R.. Failure of glucagon supression contributes to postprandial hyperglycaemia in IDDM. Diabetologia 1995; 38: 337-343.
32. Chait A, Bierman EL, Albers JJ. Low density lipoprotein receptor activity in cultured human skin fibroblast. Mechanism of insulin-induced stimulation. J. Clin. Invest. 1979; 64: 1309-1319.
33. Borggreve SE, de Vries R, Dullaart RP. Alteration in high density lipoprotein metabolism and reverse cholesterol transport in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus: role of the lipolytic enzymes, lecithin:cholesterol acylotransferase and lipid transfer proteins. Eur. J. Clin. Invest. 2003; 33: 1051-1069.
34. Eisenbarth GS. Type 1 diabetes mellitus. A chronic autoimmune disease. N. Engl. J. Med. 1986; 314: 1360-1368.
35. Atkinson M, Eisenbarth GS. Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. Lancet 2001; 358: 221-229.

36. Barker JM, Yu J, Yu L, Wang J, Miao D, Bao F, Hoffenberg E, Nelson JC. Autoantibody „subspecifity" in type 1 diabetes: risk for organ-specific autoimmunity clusters in distinct groups. Diabetes Care 2005; 28: 850-855.
37. Kukko M, Kimpimaki T, Korhonen S, Kupila A, Simell S, Veijola R, Simell T. Dynamics of diabetes-associated autoantibodies in young children with human leukocyte antigen-conferred risk of type 1 diabetes recruited from the general population. J. Clin. Endocrinol. Metabol. 2005; 90: 2712-2717.
38. Lohmann T, Kellner K, Verlohren HJ, Krug J, Steindorf J, Scherbaum WA, Seissler J. Titre and combination of ICA and autoantibodies to glutamic acid decarboxylase discriminate two clinically distinct types of latent autoimmune diabetes in adults (LADA). Diabetologia 2001; 44: 1005-1010.
39. Hosszufalusi N, Vatay A. Similar genetic features and different islet cell autoantibody pattern of Latent Autoimmune Diabetes in Adults (LADA) compared with Adult-Onset Type 1 diabetes with rapid progression. Diabetes Care 2003; 26: 452- 457.
40. Gambelunghe G, Forini F, Laureti S, Murdolo G, Toraldo G, Santeusanio F, Brunetti P, Sanjeevi CB, Falorini A. Incerased risk for endocrine autoimmunity in Italian type 2 diabetic patients with GAD 65 autoantibodies. Clin Endocrinol 2000; 52: 565-573
41. Falorini A, Calcinaro F. Autoantibody profile and epitope mapping in Latent Autoimmune Diabetes in Adults. Ann N Y Acac Sci 2002; 958: 99-106.
42. Tree TI, Duinkeren G, Willemen S, de Vries RR, Roep BO. HLA-DG-regulated T-cell responses to islet cell autoantigens insulin and GAD65. Diabetes 2004; 53: 1692-1699.
43. Roep BO. The role of T-cells in the pathogenesis of Type 1 diabetes: from cause to cure. Diabetologia 2003;46:305-321.
44. Schloot NC, Willemen S, Duinkerken G, de Vries RR, Roep BO. Cloned T-cells from recent onset IDDM patient reactive with insulin B-chain. J. Autoimmun.1998; 11: 169-175.
45. Hawkes CJ, Schlott NC, Marks J, Willemon SJ, Drijfhout JW, Mayer EK, Christie MR, Roep BO. T-cells lines reactive to an immunodominant epitope of the tyrosine phosphatase-like autoantigen IA-2 in type 1 diabetes. Diabetes 2000; 49: 356-366.

46. Haskins K, Wegman D. Diabetogenic T-cells clones. Diabetes 1996; 45: 1299-1305.
47. Boehmer H, Sarukhan A. GAD a single autoantigen for diabetes. Science 1999; 284: 1135-1137.
48. .Schloot NC, Roep BO, Wegmann D, Yu L, Chase HP, Wang T, Eisenbarth GS. Altered immune responses to insulin in newly diagnosed versus insulin treated diabetic patients and healthy control subjects. Diabetologia 1997; 40: 564-572.
49. Schatz D, Winter W. Recent advances in the immunopathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. Curr. Opin. Pediatr. 1995; 7: 459-465.
50. Verge Ch, Stenger D, Bonifacio E, Colman PG, Pilcher C, Bingley PJ, Eisenbarth GS. Combined use of autoantibodies (IA-2A, GADA, IAA, ICA) in diabetes type 1. Diabetes 1998; 47: 1857-1866.
51. Barker JM, Barriga KJ, Yu L, Miao D, Erlich HA, Norris JM, Eisenbarth GS, Rewers M. Diabetes Autoimmunity Study in the Young. Prediction of autoatnibody positivity and progression to type 1 diabetes: Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). J. Clin. Endocrinol.Metab. 2004; 89: 3896-3902.
52. Rabinovitch A, Skyler JS. Prevention of type 1 diabetes. Med. Clin. North. Am. 1998; 82: 739-755.
53. Bonifacio E, Genovese S, Braghi S, Bazzigaluppi E, Lampasona V, Bingle PJ, Rogge L, Pastore MR, Bognetti E, Bottazzo GF, Gale EAM, Bosi E. Islet autoantibody markers in IDDM: risk assessment strategies yielding high sensitivity. Diabetologia 1995; 38: 816-822.
54. Nayak RC, Omar MAK, Rabizadeh A, Srikanta S, Eisenbarth GS. „Cytoplasmic" islet cell antibodies: evidence that the target antigen is sialoglycoconjugate. Diabetes 1985; 34: 617-619.
55. Atkinson MA, Kaufman DL, Newman D, Tobin AJ, Maclaren NK. Islet cell cytoplasmic autoantibody reactivity to glutamic decarboxylase in insulin-dependent diabetes. J. Clin. Invest. 1993; 91: 350-356.
56. Myers MA, Rabin DU, Rowley MJ. Pancreeatic islet cell cytoplasmic antibody in diabetes is represented by antibodies to islet cell antigen 512 and glutamic acid decarboxylase. Diabetes 1995; 44: 1290-1295.

57. Karjalainen J, Knip M, Mustonen A, Ilonen J, Akerblom HK. Relation between insulin antibody and complement-fixing islet cell antibody at clinical diagnosis of IDDM. Diabetes 1986; 35: 620-622
58. Vahasalo P, Knip M, Karjalainen J, Tuomilehto-Wolf E, Lounamaa R, Akerblom HK. Icelt cell-specyfic autoantibodies in children with insulin-dependent diabetes mellitus and their siblings at clinical manifestation of the disease. The Childhood Diabetes in Finland Study Group. Eur J Endocrinol 1996; 135: 689-695.
59. Neufeld M, Maclaren NK, Riley WJ, Lezotte D, McLaughlin JV, Silverstein J, Rosenbloom AL. Islet cell and other organ-specific antibodies in U.S. Caucasian and blacks with insulin-dependent diabetes mellitus. Diabetes 1980; 29: 589-592.
60. Thai AC, Eisenbarth GS. Natural history of IDDM. Diab. Rev. 1993; 1: 1-14.
61. Bruining GJ, Molenaar JL, Grobbee DE, Hofman A, Scheffe GJ, Bru□ing HA, de Bruyn AM, Valkenburg HA. Ten-year follow-up study of islet-cell antibodies and childhood diabetes mellitus. Lancet 1989; 20: 1100-1103.
62. Karjalainen JK. Islet cell antibodies as predictive markers for IDDM in children with high background incidence of disease. Diabetes 1990; 39:1144-1150.
63. Bonifacio E, Bingley PJ, Shattock M, Dean BM, Dunger D, Gale EAM, Botazzo GF. Quantification of islet-cell antibodies and prediction of insulin-dependent diabetes. Lancet 1990; 335:147-149.
64. Karjalainen J, Knip M, Mustonen A, Ilonen J, □kerblom HK. Relation between insulin antibody and complement-fixing islet cell antibody at clinical diagnosis of IDDM. Diabetes 1986; 35: 620-622.
65. Schernthaner G, Hink S, Knopp HP, Muzyka B, Streit G, Kroiss A. Progress in the characterization of slowly progressive autoimmune diabetes in adult patients (LADA or type 1,5 diabetes). Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes 2001; 109 (supl.2): S94-S108.
66. Niskanen L, Karjalainen J, Sarlund H, Siitonen O, Uusitupa M. Five year follow-up of islet-cell antibodies in (non-insulin dependent) diabetes mellitus. Diabetologia 1991; 34: 402-408.
67. Tuomi T, Groop LC, Zimmet PZ, Rowley MJ, Knowles W, Mackay IR. Antibodies to glutamic acid decarboxylase reveal latent autoimmune diabetes

mellitus in adults with a non-insulin-dependent onset of disease. Diabetes 1993; 42: 359-362.

68. Pietropaolo M, Barinas-Mitchell E, Pietropaolo SL, Kuller LH, Trucco M. Evidence of islet cell autoimmunity in elderly patients with type 2 diabetes. Diabetes 2000; 49: 32-38.
69. Tuomilehto J, Zimmet P, Mackay IR, Koskela P, Vidgren G, Toivanen L, Tuomilehto-Wolf E, Kohtamaki K, Stengard J, Rowley MJ. Antibodies to glutamic acid decarboxylase as predictors of insulin-dependent diabetes mellitus before clinical onset of disease. Lancet 1994; 343; 1383-1385.
70. Davis TM, Wright AD, Mehta ZM, Cull CA, Stratton IM, Bottazzo GF, Bosi E, Mackay IR, Holman RR. Islet autoantibodies in clinically diagnosed type 2 diabetes: prevalence and relationship with metabolic control (UKPDS 70). Diabetologia 2005; 48: 695-702.
71. Rowley MJ, Mackay IR, Chen QY, Knowles W, Zimmet PZ. Antibodies to glutamic acid decarboxylase discriminate major type of diabetes mellitus. Diabetes 1992; 41: 548-551.
72. Palmer JP, Asplin CM, Clemons P, Lyen K, Tatpati O, Raghu PK, Fonte MT, Bottazzo GF, Gale EA. Insulin antibodies in insulin-dependent diabetics before insulin treatment. Science 1983; 222: 133-139.
73. Bingley PJ, Christie MR, Bonifacio E, Bonfanti R, Shattock M, Fonte MT, Botazzo GF, Gale EA. Combined analysis of autoantibodies improves prediction of IDDM in islet cell antibody positive relatives. Diabetes 1994; 43: 1304-1310.
74. Gerling I, Baekkeskov S, Lernmark A. Islet cell and 64K autoantibodies are associated with plasma IgG in newly diagnosed insulin-dependent diabetic children. J. Immunol. 1986; 137: 3782-3785.
75. Atkinson MA, Maclaren NK. Islet cell autoantigens in insulin-dependent diabetes. J Clin Invest 1993; 92: 1608-1616.
76. Degli EM, Mackay IR. The GABA network and the pathogenesis of IDDM. Diabetologia 1997; 40: 352-356.
77. Daw K, Powers AC. Two distinct glutamic acid decarboxylase auto-antibody specificities in IDDM target different epitopes. Diabetes 1995; 44: 216-220.
78. Hagopian WA, Sanjeevi CB, Kockum I, Landin-Olsson M, Karlsen AE, Sundkrist G, Dahlquist G, Palmer J, Lemmark A. Glutamate decarboxylase-,

insulin-and islet cell-antibodies and HLA typing to detect diabetes in general populations-based study of Swedish children. J. Clin. Invest. 1995; 95: 1505-1511.

79. Bingley PJ, Bonifacio E, Williams AJ, Genovese S, Bottazzo GF, Gale EA, Prediction of IDDM in the general population: strategies based on combination of autoantibody markers. Diabetes 1997; 46: 1701-1710.
80. Strebelow M, Schlosser M, Ziegler B, Rjasanowski I, Ziegler M. Karlsburg Type I diabetes risk study of a general population: frequencies and interaction of the four major Type I diabetes-associated autoantibodies studied in 9419 schoolchildren. Diabetologia 1999; 42: 661-670.
81. Gorus FK, Goubert P, Semakula C, Vandewalle CL, De Schepper J, Scheen A, Christie MR, Pipeleers DG and the Belgian Diabetes Registry. IA-2-autoantibodies complement GAD65-autoantibodies in new-onset IDDM patients and help predict impending diabetes in their siblings. Diabetologia 1997; 40: 95-99.
82. Seissler J, Morgenthaler NG, Achenbach P, Lampeter EF, Glawe D, Payton M, Christie M, Scherbaum WA and the DENIS Study Group. Combined screening for autoantibodies to IA-2 and antibodies to glutamic acid decarboxylase in first degree realtives of patiens with IDDM. Diabetologia 1996; 39: 1351-1356.
83. Verge CF, Gianani R, Kawasaki E, Yu L, Pietropaolo M, Jackson RA, Chase HP, Eisenbarth GS. Prediction of type I diabetes in first-degree relatives using a combination of insulin, GAD, and ICA512bdc/IA-2 autoantibodies. Diabetes 1996, 45: 926- 933.
84. Rabin DU, Pleasic SM, Shapiro JA, Yoo-Warren H, Oles J, Hicks JM, Goldstein DE, Roe PM. Islet cell antigen 512 is a diabetes-specyfic islet autoantigen related to protein tyrosine phosphatases. J. Immunol. 1994; 152: 3183-3188.
85. Lan MS, Wasserfall C, Maclaren NK, Notkins AL. IA-2, a transmembrane protein of the protein tyrosine phosphatase family, is a major autoantigen in insulin-dependent diabetes mellitus. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1996; 93: 6367-6370.
86. Schmidli RS, Colman PG, Cui L, Yu WP, Kewming K, Jankulovski C, Harrison LC, Pallen CJ, DeAizpurua HJ. Antibodies to the protein tyrosine

phosphatase IAR and IA-2 are associated with the progression to insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) in first-degree realatives at-risk for IDDM. Autoimmunity 1998; 28: 15-23.

87. Pozilli P, Manfini S, Monetini L. Biochemical markers of type 1 diabetes: clinical use. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 2001; 61: 38-44
88. Greenbaum CJ, Palmer JP, Kuglin B, Kolb H. Insulin autoantibodies measured by radioimmunoassay methodology are more related to insulin-dependent diabetes mellitus than those measured by enzyme-linked immunosorbent assay: results for the Fourth International Workshop on the Standardization of Insulin Autoantibody Measurement. J. Clin. Endocrionol. Metab. 1992; 74: 1040-1044
89. Bingley PJ, Bonifacio E, Mueller PW and participating laboratories. Diabetes antibody standarization program: first assay proficiency evaluation. Diabetes 2003; 52: 1128-1136.
90. Leslie RD, Atkinson MA, Notkins AL. Autoantigens IA-2 and GAD in Type I (insulin-dependent) diabetes. Diabetologia 1999; 42: 3-14.
91. Kulmala P, Savola K, Petersen JS, Vahasalo P, Karjalainen J, Lopponene T, Dyrberg T, Akerblom HK, Knip M. Prediction of insulin-dependent diabetes mellitus in siblings of children with diabetes: a population-based study. J. Clin. Invest. 1998; 101: 327-336.
92. Roll U, Christie MR, Standl E, Ziegler AG. Association of anty-GAD antibodies with islet cell antibodies and insulin autoantibodies in first-degree relatives of type I diabetic patients. Diabetes 1994; 43: 154-160.
93. Krętowski A, Szelachowska M, Kinalska I. Ocena znaczenia przeciwciał przeciwwyspowych (ICA) i skierowanych przeciwko dekarboksylazie kwasu glutaminowego (anty-GAD) w prognozowaniu cukrzycy typu 1 w populacji polskiej-obserwacja 5-letnia. Pol. Arch. Med. Wewn.1999; 4: 323-327.
94. Krętowski A, Kowalska I, Peczyńska J, Urban M, Kinalska J. Przeciwciała anty-IA-2 i anty-GAD u pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 i ich krewnych 1 stopnia. Przegl. Lek. 2000; 57: 143-146.
95. Ziegler AG, Herskowitz RD, Jackson RA. Predicting type I diabetes. Diabetes Care 1990; 13: 762-775.
96. Turner R, Stratton I. UKPDS 25: Autoantibodies to islet-cell cytoplasm and glutamic acid decarboxylase for prediction of insulin requirement in type 2 diabetes. The Lancet 1997; 350: 1288- 1293.

97. Rabinovitch A, Skyler JS. Prevention of type 1 diabetes. Med. Clin. North Am. 1998; 82: 739-755.
98. Damm P, Kuhl C, Buschard K. Prevalence and predictive value of islet cell antibodies and autoantibodies in women with gestational diabetes. Diabet. Med. 1994; 11: 558-563.
99. Buschard K, Buch I, Molsted-Pedesen L. Increase incidence of true type I diabetes acquired during pregnancy. BMJ 1987; 294: 275-279.
100. Shonfeld Y, Schwarz RS. Immunologic and genetic factors in autoimmune diseases. N. Engl. J. Med. 1984; 311: 1019-1029.
101. Giordano C. Immunobiology of normal and diabetic pregnancy. Immunol. Today 1990; 11: 301-303.
102. Kita M, Goulis DG, Avramides A. Post-partum thyroiditis in a mediterranean population. J. Endocrinol. Invest. 2002; 25: 513-519.
103. McCune AB, Weston WL, Lee LA. Maternal and fetal outcome in neonatal lupus erythematosus. Ann. Intern. Med. 1987; 106: 518-523.
104. Bingley PJ, Bonifacio E, Mueller PW and participating laboratories. Diabetes antibody standarization program: first assay proficiency evaluation. Diabetes 2003; 52: 1128-1136.
105. Petersen JS, Dyrberg T, Kuhl C, Molsted-Pedersen L, Buschard K. GAD65 autoantibodies in woman with gestational or insulin dependent diabetes diagnosed during pregnancy. Diabetologia 1996; 39: 1329- 1333.
106. Füchtenbusch M, Ferber K, Standl E, Ziegler AG. Prediction of type 1 diabetes postpartum in patients with gestational diabetes mellitus by combined islet cell autoantibody screening. Diabetes 1997; 46: 1459- 1467.
107. Järvala IY, Juutinen J, Koszkela P, Hartikainen AL, Kulmala P, Knip M, Tapanainen JS. Gestational Diabetes Identifies Women at Risk for Permanent Type 1 and Type 2 Diabetes in Fertile Age. Diabetes Care 2006: 29: 607-612.
108. Dozio N, Beretta A, Belloni C, Castiglioni M, Rosa S, Bosi E, Bonifacio E. Low prevalence of islet autoantibodies in patients with gestational diabetes mellitus 1997; 20: 81-83.
109. Lapolla A, Betterle A, Sanzari M, Zanchetta R, Pfeifer E, Businaro A, Fagiolo U, Plebani M, Marini S, Photiou E, Fedele D. An immunological and gentetic study of patients with gestational diabetes mellitus. Acta Diabetol. 1996; 33: 139-144.

110. Konarzewska J, Bąkowska A, Kusiak E, Wierzchowska J, Wójcikowski Cz. Autoimmunologiczne markery cukrzycy typu 1 po przebyciu ciąży powikłanej cukrzycą ciężarnych. Diabetologia Doświadczalna i Kliniczna 2005; 5: 145-151.
111. Freinkel N, Metzger BE, Phelps RL, Radvany RM, Vaisrub N. Gestational diabetes mellitus: heterogeneity of materanal age, weight, insulin secretion, HLA antigens, and islet cell antibodies and the impact of maternal metabolism on pancreatic B-cell and somatic development in the offspring. Diabetes 1985; 34: 1-7.
112. Ferber K, Keller E, Albert ED, Ziegler AG. Predictive value of human leukocyte antigen Class II typing for the development of islet autantibodies and insulin-dependent diabetes postpartum in women with gestational diabetes. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1999; 84: 2342-2348.
113. Löbner K, Knopff A, Baumgarten A, Mollenhauer U, Marlenfeld S, Garrido-Franco M, Bonifacio E, Ziegler AG. Predictors of Postpartum Diabetes in Women With Gestational Diabetes Mellitus. Diabetes 2006; 55:792-797.
114. Kinalski M, Krętowski A, Telejko B, Kowalska J, Bingley P, Kinalska J. Występowanie przeciwciał ICA, antyGAD I antyIA-2 u kobiet z cukrzycą ciężarnych leczonych dietą cukrzycową Przegląd Lekarski. 1999; 56: 342-346.
115. Bo S, Menato G, Pinach S, Signorile A, Barolelli C, Lezo A, Marchisio B, Gentile L, Cassader M, Massobrio M, Pagano G. Clinical characteristics and outcome of pregnancy in women with getational hyperglycaemia with and without antibodies to ß-cell antigens. Diabetic Medicine 2003; 20: 64-68.
116. Hämäläinen AM, Savola K, Kulmala PK, Koskela P, Akerblom HK, Knip M, Finnish TRIGER Study Group. Disease-associated autoantibodies during pregnancy and at birth in familiy affected by type 1 diabetes. Clin. Exp. Immunol. 2001; 126: 230-235.
117. Reece E, Homko C, Wiznitzer A. Metabolic changes in diabetic and nondiabetic subjects during pregnancy. Obstet. Gynecol. Surv. 1994;49: 64-71.
118. Schwartz R, Gruppuso P, Petzold K, Brambilla D, Hiilesmaa V, Terama KA. Hyperinsulinemia and macrosomia in the fetus of the diabetic mother. Diabetes Care 1994; 17:640-648.
119. Naserke HE, Bonifacio E, Ziegler AG. Prevalence, characteristics and Diabetes Risk Associated with Transient Maternally Acquired Islet Antibodies and

Persistent Islet Antibodies in Offspring of Parents with Type 1 Diabetes.J. Clin. Endocrinol. Metab. 2001; 86: 4826-4833.

120. Dahlquist GG, Ivarsson S, Lindberg B, Forsgren M. Maternal enteroviral infection during pregnancy as a risk factor for childhood IDDM. A population-based case-control study. Diabetes 1995; 44: 408-413.
121. Dahlquist G, Blom L, Lonnberg G. The Swedish Childhood Diabetes Study- a multivariate analysis of risk determination for diabetes in different age groups. Diabetologia 1991; 34: 757-762.
122. Hyoty H, Hiltunen M, Knip M. A prospective study of the role of caxackie B and the enterovirus infections in the pathogenesis of IDDM. Childhood Diabetes in Finland (DiMe) Study Group. Diabetes 1995; 44: 652-657.
123. Warram JH, Martin BC, Krolewski AS. Risk of IDDM in children of diabetic mothers decrease with increasing maternal age at pregnancy. Diabetes 1991; 40: 1679-1684.
124. Koczwara K, Bonifacio E, Ziegler AG. Transmission of maternal islet antibodies and risk of autoimmune diabetes in offspring of mothers with type 1 diabetes. Diabetes 2004; 53: 1-4.
125. Holm BC, Svensson J, Akesson C, Arvastsson J, Ljungberg J, Lynch K, Ivarsson SA, Lemmark A, Cilio CM: the Diabetes Prediction Study in Skane (DiPiS). Evidence for immunological priming and increased frequency of CD4+CD25+ cord blood T cells in children born to mothers with type 1 diabetes. Clin. Exp. Immunology 2006; 146: 493-502.
126. Buchanan TA, Catalano PM. The pathogenesis of GDM: implication for diabetes after pregnancy. Diabetes Rev. 1995; 3: 584-601.
127. Whittingham S, Byron SL, Tuomilehto J, Zimmet PZ, Myers MA, Vidgren G, Rowley MJ, Feeney SJ, Koskela P, Tuomilehto-Wolf E, Mackay IR. Autoantibodies associated with presymptomatic insulin-dependent diabetes mellitus in women. Diabetic Med. 1997; 14: 678-685.
128. Beischer NA, Wein P, Sheedy MT, Mackay IR, Rowley MJ, Zimmet P. Prevalence of antobodies to glutamic acid decarboxylase in women who have had gestational diabetes. Am. J. Ostet. Gynecol. 1995; 173: 1563-1569.
129. Kousta E, Lawrence NJ, Anyaoku V, Johnston DG, McCarthy MI. Prevalence and features of pancreatic islet cell autoimmunity in women with gestational

diabetes from different ethnic groups. British Journal of Obstetrics and Gynecology 2001; 108: 716-720.

130. Ivarsson SA, Ackefors M, Carlsson A, Ekberg G, Falorini A, Kockum I, Landin-Olsson M, Lernmark A, Lindberg B, Sundkvist G, Svanberg L. Glutamate decarboxylase antibodies in nondiabetic pregnancy proceeds insulin-dependent diabetes in the mother but not necessarily in the offspring. Autoimmunity 1997; 26: 261-269.
131. Mayrhofer M, Rabin DU, Messenger L, Standl E, Ziegler AG. Value of ICA512 antibodies for prediction and diagnosis of type 1 diabetes. Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes 1996; 104: 228-234.
132. Catalano PM, Huston L, Amini SB, Kalhan SC. Longitudinal changes in glucose metabolism during pregnancy in obese women with normal glucose tolerance and gestational diabetes mellitus. Am. J. Obstet. Gynecol. 1999; 180: 903-916
133. Solomon CG, Willett WC, Rich-Edwards J, Hunter DJ, Stampfer MJ, Colditz GA, Manson JE. Variability in diagnostic criteria for gestational diabetes. Diabetes Care 1996; 19: 12- 16.
134. Deerochanawong C, Putiyanum C, Wongsuryrat M, Serirat S, Jinayon P. Comparison of National Daibetes Data Group and World Health Organization criteria for detecting gestational diabetes mellitus. Diabetologia 1996; 39: 1070-1073.
135. Moses RG, Moses M, Russell KG, Schier GM. The 75-g glucose tolerance test in pregnancy. Diabetes Care 1998; 21: 1807-1811.
136. Schmidt MI, Duncan BB, Reichelt AJ, Branchtein L, Matos MC, Casta e Forti A, Spichler ER, Pousada JM, Teixeira MM, Yamashita T, Brazilian Gestational Diabetes Study Group. Gestational diabetes mellitus diagnosed with 2-h 75-g OGTT and adverse pregnancy outcomes. Diabetes Care 2001; 24: 1151-1155.
137. Lindsay MK, Graves W, Klein L. The relationship of one abnormal glucose tolerance test value and pregnancy complication. Obstet. Gynecol. 1989; 73: 103-106.
138. Bevier WC, Fischer R, Jovanovic L. Treatment of women with abnormal glucose challenge test (but a normal oral glucose tolerance test) decreases the prevalence of macrosomia. Am. J. Perinatol. 1999; 16: 269-275.

139. Sermer M, Naylor CD, Gare DJ, Kenshole AB, Ritchie JW, Farine D, Cohen HR, McArthur K, Hoizaphel S, Bringer A, Chen E. for the Toronto Tri-Hospital Gestational Diabetes Investigators. Impact of increasing glucose intolerance on maternal-fetal outcomes in 3637 women without gestational diabetes. Am. J. Obstet. Gynecol. 2001; 185: 413-419.
140. Kobayashi T, Makanishi K, Murase T, Kosaka K. Small doses of subcutaneous insulin as a strategy for preventing slowly progressive beta-cell failure in islet cell antibody-positive patients with clinical features of NIDDM. Diabetes 1996; 45: 622-626.

9. Spis rycin i tabel

Rycina 1. Algorytm rozpoznawania cukrzycy ciężarnych według PTD 11

Rycina 2. Naturalny przebieg cukrzycy typu 1 według Eisenbartha 15

Rycina 3. Etapy oznaczania przeciwciał GADA metodą ELISA 28

Rycina 4. Etapy oznaczania przeciwciał IA-2A metodą ELISA 29

Rycina 5. Trzustka małpy. Obraz w mikroskopie fluorescencyjnym przeciwciał ICA 31

Rycina 6. Charakterystyka badanej grupy 35

Rycina 7. Obecność przeciwciał GADA, IA-2A i ICA w grupie 1 41

Rycina 8. Częstość przynależności do grupy 1a i 1b w obrębie grupy 1 42

Rycina 9. Obecność GADA, IA-2A i ICA w grupie 1a i 1b 42

Rycina 10. Obecność przeciwciał GADA, IA-2A i ICA w grupie 3 43

Rycina 11. Ilość obecnych typów przeciwciał w grupie 3b 43

Rycina 12. Związek pomiędzy obecnością przeciwciał w grupie GDM a odsetkiem HbA1c i stężeniem peptydu C. 63

Tabela 1. Zmodyfikowana klasyfikacja cukrzycy w ciąży według White 9

Tabela 2. Charakterystyka kliniczna badanej grupy 36

Tabela 3. Charakterystyka kliniczna pacjentek z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych 37

Tabela 4. Obecność przeciwciał u pacjentek z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych 38

Tabela 5. Obecność przeciwciał w grupie, w której wykluczono cukrzycę ciężarnych 39

Tabela 6. Obecność przeciwciał GADA, IA-2A i ICA w badanych grupach 40

Tabela 7. Porównanie cech klinicznych grup 1, 2 oraz 3a 45

Tabela 8. Porównanie cech klinicznych grup 1a, 2 i 3a. 46

Tabela 9. Charakterystyka kliniczna pacjentek z cukrzycą ciężarnych z obecnym więcej niż jednym typem przeciwciał przeciwko antygenom wysp trzustkowych, pacjentek GDM Ab- oraz grupy ciężarnych z wykluczoną cukrzycą ciężarnych .. 47
Tabela 10. Porównanie średnich stężeń lipidów w grupach 1, 2 i 3a 49
Tabela 11. Porównanie średnich stężeń lipidów w grupie 1a, 2 i 3a 50
Tabela 12. Porównanie średnich stężeń lipidów w grupie 1b, 2 i 3a 51
Tabela 13. Porównanie parametrów gospodarki węglowodanowej w grupach 1, 2 i 3a 52
Tabela 14. Porównanie parametrów gospodarki węglowodanowej w grupach 1a,2 i 3a 53
Tabela 15. Porównanie parametrów gospodarki węglowodanowej w grupach 1b,2 i 3a 54
Tabela 16. Porównanie kliniczne grupy 1a i 1b..... 55
Tabela 17. Porównanie parametrów gospodarki lipidowej w grupie 1a i 1b 56
Tabela 18. Porównanie parametrów gospodarki węglowodanowej w grupie 1a i 1b. .. 57
Tabela 19. Charakterystyka grupy o zwiększonym ryzyku cukrzycy autoimmunizacyjnej w grupie pacjentek z cukrzycą ciężarnych z obecnym jednym typem przeciwciał 58
Tabela 20. Charakterystyka grupy o zwiększonym ryzyku cukrzycy autoimmunizacyjnej w grupie pacjentek z cukrzycą ciężarnych z obecnym więcej niż jednym typem przeciwciał..... 59
Tabela 21. Porównanie parametrów gospodarki węglowodanowej w grupie 1 i 3b 62
Tabela 22. Propozycja schematu oceny czynników ryzyka autoimmunizacyjnej cukrzycy ciężarnych u pacjentek z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych 74

10 Streszczenie

Cukrzyca ciężarnych (Gestational Diabetes Mellitus – GDM) to wszelkiego rodzaju zaburzenia gospodarki węglowodanowej rozpoznane lub wykryte podczas ciąży, niezależnie od etiologii, sposobu leczenia oraz obecności lub braku tych zaburzeń po zakończeniu ciąży. Cukrzyca ujawniająca się w okresie ciąży to najczęściej cukrzyca typu 2, ale istnieje grupa pacjentek, u których cukrzyca ciężarnych jest sygnałem rozwijającej cię cukrzycy typu 1. O toczącym się procesie autoimmunizacyjnym świadczą krążące we krwi przeciwciała skierowane przeciwko antygenom wysp trzustkowych. Rozpoznanie rozwijającej się cukrzycy typu 1 ma duże znaczenie nie tylko naukowe, ale również terapeutyczne i być może już niedługo także profilaktyczne. Niniejsza rozprawa doktorska przedstawia charakterystykę kliniczną ciężarnych z autoimmunizacyjną cukrzycą ciężarnych oraz określa częstość tej grupy w populacji polskiej. Szczegółowymi celami były: a/ określenie częstości cukrzycy ciężarnych z obecnymi przeciwciałami przeciwko antygenom wysp trzustkowych, b/ analiza porównawcza wybranych parametrów klinicznych, immunologicznych, biochemicznych u pacjentek z GDM i obecnymi przeciwciałami przeciwko antygenom wysp trzustkowych, pacjentek z GDM nieposiadających przeciwciał przeciwko antygenom wysp trzustkowych oraz grupą pacjentek z wykluczoną GDM, c/ charakterystyka kliniczna pacjentek z GDM i obecnymi przeciwciałami przeciwko antygenom wysp trzustkowych. U wszystkich ciężarnych wykonano badania obejmujące ocenę obecności przeciwciał GADA, IA-2A, ICA. Charakterystyka kliniczna obejmowała dane dotyczące wieku, BMI przed ciążą, przyrostu masy w ciąży, ciśnienia tętniczego, a także parametrów biochemicznych: glikemii w trakcie OGTT (krzywa dwupunktowa), odsetka HbA1c, stężenia peptydu C oraz lipidogramu. W

przebadanej grupie 247 ciężarnych 184 (74,1%) stanowiły pacjentki z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych, z czego 86 (46,4%) ciężarnych leczonych było wyłącznie dietą, 98 (53,6%) dietą i insuliną. Grupę z wykluczoną cukrzycą ciężarnych stanowiło 63 (25,9%) ciężarnych, z czego 51 (81%) miało dodatni wynik testu przesiewowego. Częstość przeciwciał stwierdzono u 18,6% pacjentek z rozpoznaną cukrzycą ciężarnych oraz u 17,3% pacjentek z nieprawidłowym wynikiem testu przesiewowego. W grupie pacjentek GDM G/B częstość przeciwciał oceniono na poziomie 21,43%, w grupie GDM G/A 15,29%. Najczęstszym pojedynczym przeciwciałem były GADA (16,9%), następnie ICA (4,4%) i IA-2A (3,8%). W grupie GDM G/B więcej niż jedno przeciwciało posiadało 9,18% pacjentek, w grupie GDM G/A 1,18%. Pacjentki z GDM Ab+ miały w stosunku do pacjentek z GDM Ab- i kobiet z grupy kontrolnej najwyższą glikemię na czczo (5,01 vs 4,8 vs 4,2 mmol/l, $p<0,001$ w grupie 1 vs 3a oraz w grupie 2 vs 3a), najwyższą glikemię w 2h OGTT (9,55 vs 9,04 vs 5,61 mmol/l, $p<0,001$ w grupie 1 vs 3a oraz w grupie 2 vs 3a), najwyższy odsetek HbA1c (5,51 vs 5,13 vs 4,85 %, $p<0,01$ w grupie 1 vs 3a oraz w grupie 2 vs 3a) oraz najniższe stężenie HDL-cholesterolu (1,42 vs 1,68 vs 2,22 mmol/l, NS) i stężenie TG (2,33 vs 2,46 vs 3,58 mmol/l, $p<0,05$ w grupie 2 vs 3a, $p<0,1$ w grupie 1 vs 3a). Grupa GDM Ab+ posiadająca więcej niż jedno przeciwciało w stosunku do grupy GDM Ab- i kobiet zdrowych różniła się jeszcze wyraźniej. Posiadała ona najwyższą glikemię na czczo (5,41 vs 4,8 vs 4,2 mmol/l, $p<0,001$ w grupie 1 vs 3a oraz w grupie 2 vs 3a), najwyższy odsetek HbA1c (5,98 vs 5,13 vs 4,85 %, $p<0,001$ w grupie 1b vs 3a, $p<0,01$ w grupie 2 vs 3a, $p<0,05$ w grupie 1b vs 2) oraz w zakresie gospodarki lipidowej najniższe stężenie HDL-cholesterolu (0,93 vs 1,68 vs 2,22 mmol/l, $p<0,05$ w grupie 1b vs 3a, w grupie 1b vs 2) i najniższe, będące w normie, stężenie TG (1,98 vs 2,46 vs 3,58 mmol/l, $p<0,05$ w grupie 1b vs 3a oraz w grupie 2 vs 3a). W obrębie grupy GDM Ab+ pacjentki z

obecnym więcej niż jednym typem przeciwciał w stosunku do pacjentek z obecnym wyłącznie jednym typem przeciwciał były szczuplejsze (BMI: 23,42 vs 27,25 kg/m2, p<0,05), miały niższe stężenie HDL-cholesterolu (0,93 vs 1,65 mmol/l, p<0,01) oraz miały wyższy odsetek HbA1c (5,98 vs 5,3%, p<0,05). Niezależnymi czynnikami ryzyka obecności przeciwciał były odsetek HbA1c (OR 2,43, p<0,01) oraz przyrost masy ciała (OR 1,07, p<0,05). Niezależnymi czynnikami ryzyka obecności więcej niż jednego typu przeciwciał były: konieczność stosowania w ciąży insuliny (OR 8,41, p<0,05), odsetek HbA1c (OR 4,71, p<0,001) oraz stężenie HDL-cholesterolu (OR 0,21, p<0,01). Stwierdzono również 2,5-krotny wzrost ryzyka obecności przeciwciał dla odsetka HbA1c przynajmniej 4,9% oraz ponad 3-krotny wzrost ryzyka dla stężenia peptydu C mniejszego od 2,09 ng/ml. Na podstawie uzyskanych wyników sformułowano następujące wnioski: częstość autoimmunizacyjnej cukrzycy ciężarnych wynosi 18,6%, szczególnie narażone na autoimmunizacyjną cukrzycę są chore w klasie GDM G/B według White, szczupłe przed ciążą, mające niewielki przyrost masy w ciąży, u których związana z ciążą fizjologiczna hipertriglicerydemia jest mniej wyrażona, a stężenie HDL-cholesterolu jest szczególnie niskie. W przypadku podejrzenia autoimmunizacyjnej GDM należy wykonać jako pierwsze oznaczenie badanie na obecność przeciwciał GADA, gdyż są one obecne u 91% ciężarnych z autoimmunizacyjną postacią cukrzycy. Rozwijająca się w ciąży autoimmunizacyjną cukrzyca ciężarnych może manifestować się w postaci dyskretnych zaburzeń węglowodanowych, niewykrywalnych nawet przy zastosowaniu testu diagnostycznego. Dlatego każdy stopień zaburzeń węglowodanowych wymaga czujności diabetologicznej. Na podstawie zebranych wyników wydaje się celowe: a/ rozważenie badania przesiewowego przeciwciał przeciwko antygenom wysp trzustkowych w kierunku autoimmunizacyjnej cukrzycy ciężarnych w ciąży, szczególnie w grupach

ryzyka oraz b) objęcie opieką diabetologiczną kobiet z autoimmunizacyjną cukrzycą ciężarnych.

Abstract

Gestational diabetes mellitus is any kind of carbohydrate disorder diagnosed or detected during pregnancy, independently from etiology, the kind of treatment as well as its lasting or not after delivery.

Women with GDM have a considerable risk of developing type 2 diabetes later in life, but the risk of developing type 1 diabetes is also increased. The presence of circulating autoantibodies against beta cells antigens is a detectable marker of an ongoing destructive process in islet cells. Knowledge about developing type 1 diabetes has a wide impact not only on diabetic research, but also on clinical practice, as well as a probable prophylaxis in the future.

The doctoral dissertation concerns clinical characteristics of pregnant women with diagnosed autoimmune gestational diabetes and describes the frequency of such a group in Polish population. The aims were: a/ to determine the frequency of gestational diabetes with present autoantibodies against beta cells antigens; b/ to analyze the comparison between the chosen clinical, immunological and biochemical parameters in the GDM group who has present autoantibodies against beta cells antigens, the group who displays no presence of these antibodies and the group without GDM c/ to characterize GDM patients who have present autoantibodies against beta cells antigens. All pregnant women were tested for the presence of GADA, IA-2A, ICA. The characteristics included such data as: age, BMI before pregnancy, weight gain during pregnancy, blood pressure, as well as biochemical parameters such as: glycemia during OGTT (two-point curve), HbA1c percentage, C peptide concentration and lipids concentration. In the tested group of 247 pregnant women, 184 (74,1%) were GDM patients, in which 86 (46,4%) were treated only with a diet and 98 (53,6%) also with

insulin. The group without GDM consisted of 63 (25,9%) pregnant women, in which 51 (81%) have a positive screening test. The frequency of autoantibodies was found in 18,6% GDM patients and 17,3% in the group with positive screening test. In the GDM G/B group the frequency of autoantibodies was found to be 21,4%, while in GDM G/A – 15,29%. The most common single autoantibody was respectively: GADA (16,9%), then ICA (4,4%) and IA-2A (3,8%). In the GDM G/B group more than one autoantibody was present in 9,18% patients, while in GDM G/A – only 1,18%. GDM Ab+ patients in comparison to the GDM Ab- patients and to the control group had the highest fasting glycemia (5,01 vs 4,8 vs 4,2 mmol/l, p<0,001 in the groups 1 vs 3a and in the groups 2 vs 3a), the highest gycemia in 2h OGTT (9,55 vs 9,94 vs 5,61 mmol/l, p,0,01 in the groups 1 vs 3a, and in the groups 2 vs 3a), the highest HbA1c percentage (5,51 vs 5,13 vs 4,85 %, p<0,01 in the groups 1 vs 3a and in the groups 2 vs 3a) and the lowest HDL-cholesterol (1,42 vs 1,68 vs 2,22 mmol/l, NS) and TG concentration (2,33 vs 2,46 vs 3,58 mmol/l, p<0,05 in the groups 2 vs 3a, p<0,1 in the groups 1 vs 3a). GDM Ab+ group that has more than one autoantibody in comparison to GDM Ab- group and the group without GDM was much more different. This group had the highest fasting glycemia (5,41 vs 4,8 vs 4,2 mmol/l, p<0,001 in the groups 1 vs 3a and in the groups 2 vs 3a), the highest HbA1c percentage (5,98 vs 5,13 vs 4,85%, 0<0,001 in the groups 1b vs 3a, p<0,01 in the groups 2 vs 3a, p<0,05 in the groups 1b vs 2) and in lipids profile the lowest HDL concentration (0,93 vs 1,68 vs 2,22 mmol/l, p<0,05 in the groups 1b vs 3a and in the groups 1b vs 2) and the lowest, though within the normal range, TG concentration (1,98 vs 2,46 vs 3,58 mmol/l, p<0,05 in the groups 1b vs 3a and in the groups 2 vs 3a). In the GDM Ab+ group the patients with more than one present autoantibody in comparison to patients with only one autoantibody were leaner (BMI: 23,42 vs 27,25 kg/m2, p<0,05), had lower HDL concentration (0,93 vs 1,65

mmol/l, p<0,01) and had higher HbA1c percentage (5,98 vs 5,3%, p<0,05). The independent risk factors of the presence of autoantibodies were the following: HbA1c (OR 2,43, p<0,01) and weight gain (OR 1,07, p<0,05). The independent risk factors of the presence of more than one autoantibody were: necessity of insulin treatment (OR 8,41, p<0,01), HbA1c percentage (OR 4,71, p<0,001) and the HDL concentration (OR 0,21, p<0,01).. There was found 2,5-times increase of the risk of presence of autoantibodies for the HbA1c percentage at least 4,9% and over 3-times increase of the risk for the C-peptide concentration lower than 2,09 ng/ml.

On the basis of the results, the following conclusions were set forth: the frequency of autoimmune gestational diabetes is 18,6%. The risk groups are especially patients in GDM G/B groups (according to White class), who are lean before pregnancy, have quite small weight gain during pregnancy and who do not have any physiological triglyceride increase connected with pregnancy and who have quite a low HDL concentration. In the case of suspicion of autoimmune GDM, first of all GADA should be tested, since they are found in 91% cases of autoimmune diabetes. A developing autoimmune GDM can be manifested even in discrete carbohydrates disorders, which are even not detected during diagnostic test. Therefore all of carbohydrates disorders should be carefully analyzed by diabetologists. On the basis of the obtained results it seems worthwhile: a/ to consider a screening test of autoantibodies against beta cells antigens for the sake of seeking an autoimmune GDM, especially in the risk groups; b/ to include women with autoimmune GDM, also after delivery, into diabetological care in order to monitor developing carbohydrates disorders and to provide them with proper treatment as early as possible; c/ to put emphasis on immediate performance: diagnostic test with 75 g glucose, if its possible, in order to search for GDM, and to consider a modification of the diagnostic test, for

example, by testing glucose also 1h after glucose loading. d/ to provide diabetological care to the patients who have positive screening test and proper results of diagnostic tests searching for gestational diabetes.