

Univerzita Karlova
1. lékařská fakulta

Studijní program: Fyziologie a patofyziologie člověka

Studijní obor: Fyziologie a patofyziologie člověka



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

MUDr. Patrik Šimják

**Identifikace biomarkerů podílejících se na patofyziologii gestačního diabetes
mellitus**

Identification of biomarkers involved in the pathophysiology of gestational diabetes
mellitus

Disertační práce

Vedoucí závěrečné práce/školitel: prof. MUDr. Antonín Pařízek, CSc.

Praha, 2020

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 1.2.2020

MUDr. Patrik Šimják

Podpis

Poděkování

V první řadě bych rád poděkoval svému školiteli prof. MUDr. Antonínu Pařízkovi, CSc. za možnost být členem perinatologického týmu a podílet se na řadě zajímavých vědeckých projektů. Děkuji také za veškeré podněty, kterými obohatil mé odborné publikace, prezentace a také tuto disertační práci. Dále bych chtěl poděkovat MUDr. Kateřině Anderlové, PhD., kolegyni z 3. interní kliniky VFN a 1.LF UK, za to, že mě přivedla k hlubšímu zájmu o studium problematiky diabetu v těhotenství a za veškerou pomoc poskytnutou během mého postgraduálního studia.

Identifikační záznam:

ŠIMJÁK, Patrik. *Identifikace biomarkerů podílejících se na patofyziologii gestačního diabetes mellitus*. Praha, 2019. Disertační práce. Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta. Vedoucí práce Pařízek, Antonín.

OBSAH

ABSTRAKT	7
ABSTRACT	9
SEZNAM ZKRATEK	11
1. ÚVOD	12
1.1. Etiopatogeneze gestačního diabetes mellitus.....	15
1.2. Obezita a těhotenství.....	16
1.3. Úloha tukové tkáně v rozvoji inzulínové rezistence.....	16
1.4. Adipokiny.....	18
1.4.1. Adiponektin.....	18
1.4.2. Leptin.....	19
1.4.3. Chemerin.....	20
1.4.4. Visfatin.....	21
1.4.5. Omentin.....	22
1.4.6. Resistin.....	22
1.4.7. Vaspin.....	23
1.4.8. Fetuin.....	23
1.4.9. Fibroblastový růstový faktor 21 (Fibroblast Growth Factor 21, FGF21).....	24
1.5. Inzulínu podobné růstové faktory a jejich vazebné proteiny.....	26
2. HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE	28
2.1. Hypotéza.....	28
2.2. Cíle práce.....	28
3. METODIKA	28
3.1. Soubory vyšetřovaných osob, protokoly studií a odběry vzorků.....	28
3.1.1. Identifikace změn v plasmatické koncentraci a mRNA expresi fetuinu A, fetuinu B a FGF21.....	29
3.1.2. Stanovení změn v aktivitě systému IGF/IGFBP v tukové tkáni a na systémové úrovni.....	30
3.2. Zpracování odebraných vzorků.....	31
3.3. Měření cirkulujících hladin biochemických analytů.....	31
3.4. Měření cirkulujících hladin fetuinu A, fetuinu B a FGF21.....	32
3.6. Měření inzulínu, MCP-1 a leptinu.....	32
3.7. Měření zánětlivých faktorů – CRP, IFN- γ , IL-10, IL-6, IL-8 a TNF- α	32
3.8. Stanovení míry mRNA exprese pomocí kvantitativní polymerázové řetězové reakce v reálném čase v placentě a tukové tkáni.....	33
3.9. Statistická analýza.....	33

4. VÝSLEDKY.....	34
4.1. Stanovení změn v plazmatické koncentraci a mRNA expresi fetuinu A, fetuinu B a FGF21.....	34
4.1.1. Charakteristika studované populace, vliv těhotenství a gestačního diabetu na biochemické parametry.....	34
4.1.2. Vliv těhotenství a gestačního diabetes mellitus na plazmatickou koncentraci fetuinu A, fetuinu B a FGF21 v mateřské a smíšené pupečnickové krvi.....	36
4.1.3. Vliv těhotenství a gestačního diabetes mellitus na expresi mRNA fetuinu A, fetuinu B a FGF21 v tukové tkáni a placentě.....	38
4.1.4. Vliv těhotenství a gestačního diabetes mellitus na zánětlivé cytokiny.....	39
4.1.5. Vztah fetuinu A, fetuinu B a FGF21 k dalším studovaným parametrům.....	41
4.2. Identifikace změn v aktivitě systému IGF/IGFBP v souvislosti s těhotenstvím a porodem.....	41
4.2.1. Charakteristika studované populace, vliv těhotenství a gestačního diabetes mellitus na biochemické parametry.....	41
4.2.2. Vliv těhotenství a gestačního diabetes mellitus na sérové koncentrace IGF a IGFBP.....	44
4.2.3. Exprese mRNA IGF, vazebných proteinů a receptorů u žen s GDM, zdravých těhotných a netěhotných kontrol.....	47
4.2.4. Vztah IGF a IGFBP k jiným studovaným parametrům.....	50
5. DISKUZE.....	51
6. ZÁVĚR.....	57
7. LITERATURA.....	59
8. PŘÍLOHY.....	80
8.1. Seznam publikovaných článků a abstrakt.....	80
8.1.1. Publikace v časopisech s IF se vztahem k tématu disertace.....	80
8.1.2. Publikace v časopisech bez IF se vztahem k tématu disertace.....	80
8.1.3. Abstrakta přednášek/posterů se vztahem k tématu disertace.....	80
8.1.4. Publikace v časopisech s IF bez vztahu k tématu disertace.....	81
8.1.5. Publikace v časopisech bez IF bez vztahu k tématu disertace.....	82

ABSTRAKT

Gestační diabetes mellitus je porucha metabolismu glukózy vzniklá v těhotenství, která po porodu mizí. V důsledku produkce těhotenských hormonů dochází k inzulinové rezistenci, která není dostatečně kompenzovaná zvýšenou sekrecí inzulínu. Jelikož je obezita významným rizikovým faktorem gestačního diabetu a je také spojena s dysfunkcí tukové tkáně a zvýšenou periferní inzulinovou rezistencí, nabízí se otázka, do jaké míry tuková tkáň ovlivňuje rozvoj gestačního diabetu.

První část disertační práce je zaměřená na identifikaci změn v plazmatické koncentraci a mRNA expresi adipokinů fetuinu A, fetuinu B a FGF21. V naší studii jsme neprokázali, že přítomnost gestačního diabetu významně ovlivňovala plazmatickou koncentraci fetuinu A, fetuinu B a FGF21 v průběhu těhotenství. Důležitým zjištěním bylo, že ženy, které měly těhotenství komplikované gestačním diabetem, mají oproti zdravým těhotným ještě několik měsíců po porodu výrazně vyšší koncentraci FGF21. Podařilo se nám prokázat produkci fetuinu A v placentě a fetuinu B v perineální a podkožní tukové tkáni. Ani v jednom případě však gestační diabetes neměl na intenzitu exprese vliv. Tuková tkáň nejspíše neovlivňuje patogenezi gestačního diabetu cestou změny exprese fetuinů A a B. Přetrvávající zvýšená plazmatická koncentrace FGF21 po porodu u žen s gestačním diabetes může zčásti vysvětlovat zvýšenou dispozici k opakování gestačního diabetu v dalším těhotenství nebo později k rozvoji diabetu 2. typu.

Druhá část disertační práce byla zaměřena na stanovení změn v aktivitě systému inzulinu-podobných růstových faktorů a příslušných vazebných proteinů (IGF/IGFBP) v tukové tkáni a na systémové úrovni. Podařilo se nám prokázat zvýšenou sérovou koncentraci hlavního vazebního proteinu IGFBP-3 u těhotných s gestačním diabetem, avšak výsledný poměr IGF-1/IGFBP-3 změněn nebyl. To naznačuje, že na systémové úrovni se aktivita systému inzulinu-podobných růstových faktorů a příslušných vazebných proteinů u pacientek s gestačním diabetem nemusí lišit od zdravých těhotných. Naproti tomu jsme ve viscerální tukové tkáni prokázali sníženou mRNA expresi IGF-1, stejně jako nižší expresi receptorů IGF-1R a IGF-2R a vazebného proteinu IGFBP-4. Podobně v podkožní tukové tkáni byla prokázána nižší exprese IGF-1R. Lze tedy konstatovat, že aktivita systému inzulinu-podobných růstových faktorů a příslušných vazebných proteinů je v tukové tkáni snížena u těhotných s gestačním diabetem.

Výsledky prezentované v této disertační práci mohou přispět k lepšímu porozumění mechanismům, které ovlivňují rozvoj gestačního diabetu, ale také k pochopení souvisejících dlouhodobých metabolických důsledků pro těhotné a jejich potomky.

ABSTRACT

Gestational diabetes mellitus is a disorder of glucose metabolism that occurs in pregnancy and resolves after delivery. Increasing production of pregnancy-related hormones leads to insulin resistance which is not adequately compensated by increased insulin secretion. Since obesity is an important risk factor for gestational diabetes and is also associated with adipose tissue dysfunction and increased peripheral insulin resistance, the question arises as to what extent is the adipose tissue involved in the development of gestational diabetes.

The first part of the thesis focuses on the identification of changes in plasma concentration and mRNA expression of adipokines fetuin A, fetuin B and FGF21. In our study we did not show that the presence of gestational diabetes significantly influenced the plasma concentration of fetuin A, fetuin B and FGF21 during pregnancy. An important finding was that women who had pregnancy complicated with gestational diabetes had a significantly higher concentration of FGF21 several months after delivery in comparison to healthy pregnant women. We have been able to demonstrate the production of fetuin A in the placenta and fetuin B in perineal and subcutaneous tissue. However, in either case, GDM did not affect the intensity of expression. Adipose tissue probably does not affect the pathogenesis of GDM by altering the expression of fetuins A and B. The persisting elevated plasma FGF21 concentration postpartum in women with gestational diabetes may partly explain the increased susceptibility to gestational diabetes in subsequent pregnancy or development of type 2 diabetes later in life.

The second part of the thesis focused on the determination of changes in insulin-like growth factor axis (IGF/IGFBP) activity in adipose tissue and systemic level. We have been able to demonstrate an increased serum concentration of the main binding protein IGFBP-3 in pregnant women with gestational diabetes, but the resulting IGF-1/IGFBP-3 ratio has not been altered. This suggests that at the systemic level, insulin-like growth factor axis activity in patients with gestational diabetes may not differ from healthy pregnancies. In contrast, in visceral adipose tissue, we demonstrated reduced IGF-1 mRNA expression as well as lower expression of receptors IGF-1R and IGF-2R and IGFBP-4. Similarly, lower expression of IGF-1R was demonstrated in subcutaneous adipose tissue. Thus, it can be stated that the activity of insulin-like growth factor axis is reduced in adipose tissue in pregnant women with gestational diabetes.

The results presented in this dissertation may contribute to a better understanding of the mechanisms affecting the development of gestational diabetes, but also to the related long-term metabolic consequences for pregnant women and their offspring.

SEZNAM ZKRATEK

ALP – alkalická fosfatáza

ALT – alaninaminotransferáza

AST – aspartátaminotransferáza

BMI – body mass index, udává se jako hmotnost v kilogramech / druhá mocnina výšky v metrech

CRP – C-reaktivní protein

FGF 21 – Fibroblast Growth Factor 21

GDM – gestační diabetes mellitus

HDL – high-density lipoprotein

IGF – inzulínu podobný růstový faktor

IGF-1R – receptor pro inzulínu podobný růstový faktor typu 1

IGF-2R – receptor pro inzulínu podobný růstový faktor typu 2

IGFBP – vazebný protein inzulínu podobného růstového faktoru

IL-10 – interleukin 10

IFN- γ – interferon gama

LDL – low-density lipoprotein

NF- κ B – nukleární faktor kappa B

PPAR – receptory aktivované peroxizomovým proliferátorem

STH – somatotropní (růstový) hormon

T2DM – diabetes mellitus 2. typu

TLR4 – toll-like receptor 4

TNF- α – tumor nekrotizující faktor alfa

1. ÚVOD

Gestační diabetes mellitus (GDM) byl tradičně definován jako jakákoliv porucha glukózové tolerance, která je poprvé diagnostikovaná v průběhu těhotenství [1]. Tato definice má své limity. Na jedné straně zahrnuje také ženy, u kterých porucha glukózové tolerance přetrvává po těhotenství, na druhé straně nevyklučuje pacientky s nepoznanou poruchou, nejčastěji diabetem mellitem 2. typu (T2DM), která nebyla před těhotenstvím diagnostikovaná. Zejména počet těchto případů v těhotenství celosvětově roste s odsouváním reprodukčních plánů do vyššího věku a celosvětovým vzestupem incidence obezity. Americká diabetologická asociace proto přijala novou definici, podle které je GDM diagnostikovaný ve druhém nebo třetím trimestru těhotenství u pacientek, které neměly porušenou glukózovou toleranci před těhotenstvím [2].

Prevalence GDM se udává mezi 4 - 20 %, přičemž je výrazně ovlivněná populací, která screening podstupuje (tj. je-li screening plošný nebo selektivní), etnickou příslušností subjektů, použitou screeningovou metodou a stářím těhotenství v době testování [3,4]. Odborné společnosti v České republice přijaly v roce 2015 nové doporučení pro diagnostiku GDM, které vzešlo z výsledků prospektivní multicentrické studie *Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes* [5]. Podle dostupných údajů se předpokládá, že incidence GDM v ČR se blíží 15 - 20 % [4]. GDM je nejčastější formou diabetu v těhotenství a podílí se přibližně na 90 % ze všech případů.

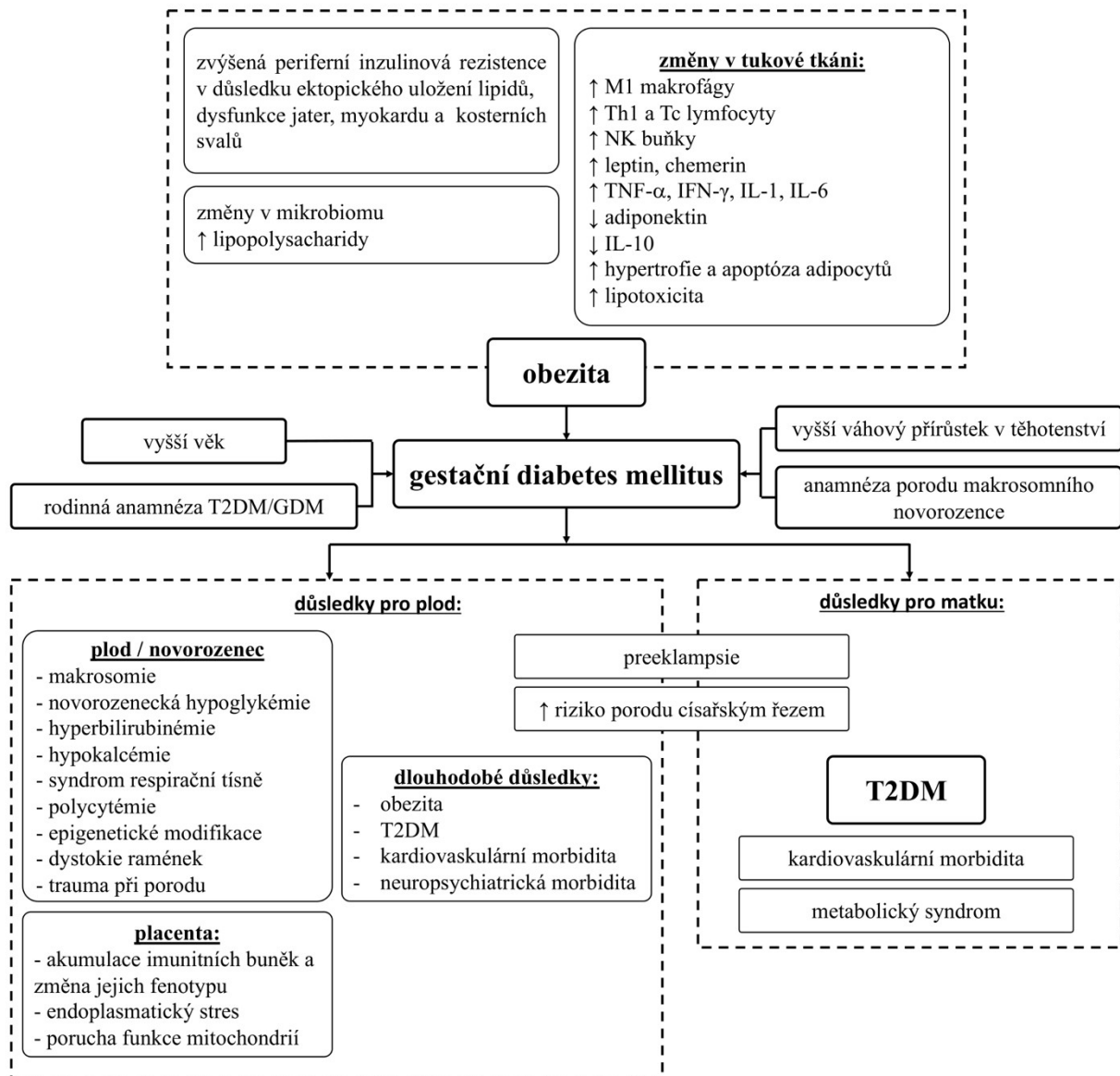
GDM může vést k řadě komplikací jak pro matku, tak pro její plod. Hyperglykémie matky způsobuje fetální hyperinzulinismus, který je pak příčinou vzniku diabetické fetopatie projevující se makrosomií plodu při současné funkční nezralosti. Makrosomní je plod, jehož porodní hmotnost je větší než 4000 g, a to nezávisle na gestačním stáří v době porodu. Mezi časté komplikace v novorozeneckém období patří novorozenecká hyperbilirubinémie, respirační tíseň plodu nebo iontové dysbalance [6]. U GDM, zvláště pokud žena čeká velký plod, je častější výskyt poruch porodního mechanismu, porodu císařským řezem, dystokie ramének, většího porodního poranění hráze nebo poranění dítěte při porodu [5]. Přesná predikce makrosomie plodu je klinicky důležitá, jelikož zásadně ovlivňuje prenatální péči. Za tímto účelem se v praxi nejčastěji využívá ultrazvuková fetální biometrie ve třetím trimestru těhotenství, která vykazuje dobrou senzitivitu a specifitu, zejména u těhotných, které jsou léčené inzulínem nebo perorálními antidiabetiky [7].

Pokud se plod vyvíjí v nepříznivém prostředí, může to pro něj znamenat také dlouhodobé následky. Nitroděložní hyperglykemie a nadvýživa plodu vedou k přetrvávajícím epigenetickým změnám na vývojově důležitých genech ovlivňujících neuroendokrinní funkce, energetickou homeostázu a metabolismus [8]. Děti žen, které měly v těhotenství GDM, mají následkem toho zvýšené riziko obezity, T2DM, kardiovaskulárních a neuropsychiatrických onemocnění jako je syndrom poruchy pozornosti a hyperaktivity a různé specifické poruchy učení [9–12].

Ženy s GDM mají v těhotenství vyšší riziko vzniku gestační hypertenze, preeklampsie, eklampsie a recidivující urogenitální infekce. Anamnéza GDM v těhotenství je také rizikovým faktorem pozdních komplikací na straně matky. Ženy, které prodělaly GDM, mají 7x vyšší riziko rozvoje T2DM a až 50 % z nich rozvine T2DM do 10 let od těhotenství [13]. Mají také významně zvýšené riziko pozdější kardiovaskulární morbidity [14].

Rizikové faktory rozvoje GDM v těhotenství jsou pokročilý věk matky, rodinná anamnéza diabetu, předchozí těhotenství komplikované GDM, anamnéza porodu makrosomního novorozence, nadváha nebo obezita [15]. Obrázek 1 schematicky shrnuje rizikové faktory rozvoje GDM, potenciální úlohu tukové tkáně a důsledky pro plod a matku [16].

Obrázek 1. Gestační diabetes mellitus: rizikové faktory a důsledky pro plod a matku.



GDM zvyšuje riziko těhotenských, ale také dlouhodobých metabolických komplikací u matek a potomků. Hlavním rizikovým faktorem rozvoje GDM je obezita, která je spojena se subklinickým zánětem v tukové tkáni a změnou střevního mikrobiomu.

Zkratky: Th1 lymfocyty – pomocné T1 lymfocyty, Tc lymfocyty – cytotoxické T lymfocyty, NK buňky – natural killer buňky, TNF- α - tumor nekrotizující faktor alfa, IFN- γ – interferon gama, IL – interleukin, T2DM – diabetes mellitus 2. typu, GDM – gestační diabetes mellitus

1.1. Etiopatogeneze gestačního diabetes mellitus

V průběhu těhotenství dochází k signifikantním změnám v metabolismu těhotné ženy. Cílem těchto změn je připravit organismus na zvýšené energetické nároky v těhotenství a zabezpečit adekvátní přísun živin a vhodné prostředí pro správný vývoj plodu [17]. Postupně dochází k přechodnému zvýšení inzulínové rezistence o 50 až 70 % oproti stavu před těhotenstvím [18,19]. Inzulínová rezistence je definována jako snížená schopnost cílových buněk vychytávat a zpracovávat glukózu z krevního oběhu při působení inzulínu [20]. Klíčovou rolí v jejím rozvoji sehraává těhotenstvím indukovaná hypertrofie tukové tkáně a placentou vylučované faktory, mezi jinými estrogen, progesteron, lidský placentární laktogen, tumor nekrotizující faktor alfa (TNF- α) [21,22]. Za normálních okolností je zvýšená inzulínová rezistence kompenzovaná zvýšenou sekrecí inzulínu β -buňkami pankreatu těhotné [23]. Právě z toho důvodu nedochází přes značné zvýšení inzulínové rezistence k výrazným změnám v cirkulující koncentraci glukózy.

Tyto adaptační změny v průběhu těhotenství se odehrávají na pozadí výchozího metabolického stavu. Některé ženy mohou mít zvýšenou inzulínovou rezistenci, ačkoliv se to dosud nemuselo klinicky projevit. U těchto žen je pak potřeba vyšší endogenní sekrece inzulínu k zajištění stejné odpovědi cílových tkání, než u žen s normální inzulínovou senzitivitou [20]. Další fyziologické zvýšení inzulínové rezistence v průběhu těhotenství tak může přesáhnout možnosti reaktivní sekrece inzulínu. β -buňky pankreatu nejsou schopné dále zvýšit produkci inzulínu, je porušená glukózová tolerance a dochází k rozvoji hyperglykémie [24].

Ženy, u kterých se později rozvine GDM, mají často vyšší inzulínovou rezistenci již před otěhotněním. [25,26]. V případech, kdy těhotenství komplikuje GDM, byla navíc popsána porucha sekrece inzulínu, která může být sekundárním důsledkem zvýšené inzulínové rezistence [27]. Na těhotenství tak lze nahlížet jako na určitý „zátěžový test“ pro organismus, který může odhalit skrytou poruchu glukózové tolerance, která zatím nedosáhla klinických rozměrů. Dosud však nebyl identifikován univerzální mechanismus, který by vysvětloval vznik GDM. Protože anamnéza GDM dramaticky zvyšuje pravděpodobnost budoucího rozvoje T2DM a metabolického syndromu, lze předpokládat, že také jejich etiopatogeneze je v řadě ohledech podobná. Skutečnost, že ženy s GDM trpí častěji nadváhou nebo obezitou nasvědčuje tomu, že ústřední úlohu v etiopatogenezi může sehraovat tuková tkáň, podobně jako u T2DM.

1.2. Obezita a těhotenství

Prevalence obezity v těhotenství celosvětově roste. Téměř 19 % těhotných žen v hospodářsky rozvinutých zemích je obézních (BMI > 30 kg/m²) [28,29]. To s sebou přináší závažná zdravotní rizika. Obezita a nadměrný váhový přírůstek v těhotenství zvyšují riziko těhotenských komplikací jako je GDM, makrosomie plodu, preeklampsie, porod císařským řezem [30,31]. Plody obézních matek mají častěji urychlený růst a vyšší riziko kongenitálních anomálií [32,33]. Novorozenci obézních matek, zejména ti, kteří se narodí makrosomní, mají vyšší riziko obezity, metabolického syndromu a kardiovaskulárních nemocí [34,35]. Obézní ženy, stejně jako ženy, které měly GDM, jsou vystavené zvýšenému riziku metabolických a kardiovaskulárních nemocí v pozdějším životě [36,37]. Obezita má na průběh těhotenství podobné negativní důsledky jako GDM. Současný výskyt GDM a obezity nebo zvýšeného hmotnostního přírůstku násobí rizika zmiňovaných komplikací [38].

1.3. Úloha tukové tkáně v rozvoji inzulinové rezistence

Tuková tkáň slouží nejen pro skladování lipidů v organismu, ale je také největším endokrinním orgánem. Je místem produkce řady hormonů, růstových faktorů, enzymů, cytokinů a faktorů komplementu. Navíc exprimuje receptory pro většinu těchto faktorů. Má tedy endokrinní, parakrinní i autokrinní účinky. Významně se podílí na regulaci glukózového a lipidového metabolismu, příjmu potravy a modulaci imunitních funkcí [39,40].

Z hlediska stavby a funkce se rozděluje na 2 hlavní typy – bílou a hnědou tukovou tkáň. Bílá tuková tkáň je dominantní u dospělých jedinců, je charakterizovaná přítomností adipocytů s jedinou tukovou kapénkou, která slouží k uchování přebytečné energie ve formě triacylglycerolů. Bílá tuková tkáň se nachází v podkoží takřka celého organismu, vyplňuje prostory kolem viscerálních orgánů dutiny břišní, retroperitonea a mediastina. Poskytuje mechanickou ochranu důležitým orgánům a cévám, je také výborným tepelným izolátorem [41]. Hnědá tuková tkáň je dominantní u novorozenců a malých savců. Je tvořena adipocyty s větším množstvím tukových kapének a hlavní funkcí je tzv. netřesová termogeneze [42]. Ta je umožněna působením tzv. odpřahujícího proteinu 1 (uncoupling protein 1, UPC1), který odpojuje gradient H⁺ iontů vznikajících při oxidaci mastných kyselin od syntézy adenosintrifosfátu a vzniklá energie se uvolňuje ve formě tepla. Hnědé zbarvení je důsledkem bohaté vaskularizace a velkého množství mitochondrií [41]. Minimální množství buněk hnědé tukové tkáně lze také nalézt u dospělých jedinců [43]. Tuková tkáň v organismu

není uniformní a na různých místech v těle se liší buněčným složením, stavbou a mírou produkce různých látek. Podle distribuce v organismu můžeme tukovou tkáň rozdělit na viscerální (*visceral adipose tissue*, VAT) a podkožní (*subcutaneous adipose tissue*, SAT). Histologicky lze v tukové tkáni identifikovat několik buněčných typů - adipocyty, preadipocyty, pojivové, endotelové a imunokompetentní buňky. Nejvíce zastoupeny jsou adipocyty. Produkují endokrinně aktivní látky, ale také cytokiny, které modulují funkci imunokompetentních buněk. Adipocyty se podílejí na udržení lokální homeostázy a regulaci inzulinové senzitivity [44]. Vznikají z prekurzorů mezenchymálního původu v procesu zvaném adipogeneze. Diferenciace ve zralé adipocyty je důsledkem změn v expresi transkripčních faktorů a pozdější akumulaci triacylglycerolů [41]. V případě zvýšeného energetického příjmu se mohou ještě tvořit nové adipocyty diferenciací z preadipocytů přítomných v tukové tkáni. Dochází tak k hyperplazii tukové tkáně [45]. Později v dospělosti je celkový počet adipocytů stálý, a tudíž je kapacita tukové tkáně pro uskladnění lipidů omezená [46]. Při dalším nadměrném energetickém příjmu dochází k hypertrofii adipocytů a posléze ke změně exprese proteinů [47]. Počet a morfologie adipocytů tedy závisí na energetické bilanci organismu a je výsledkem procesů absorpce lipidů, esterifikace, lipolýzy a diferenciace preadipocytů [45].

V hypertrofických adipocytech dochází ke změně exprese proteinů. Tento stav nazýváme dysfunkcí tukové tkáně [47]. Míra dysfunkce tukové tkáně je nepřímě úměrná poměru adiponektin/leptin, který je typicky snížený u obézních [48]. Kromě toho dochází v hypertrofických adipocytech ve zvýšené míře k tvorbě prozánětlivých cytokinů [49]. Hypertrofické adipocyty jsou navíc nedostatečně cévně zásobené, což vede k rozvoji lokální tkáňové hypoxie, metabolickému stresu, nekróze nebo řízené buněčné smrti [50]. Následkem toho dochází v tukové tkáni k akumulaci a aktivaci imunokompetentních buněk. Převládají prozánětlivě působící M1 makrofágy a CD8⁺ na úkor CD4⁺ T lymfocytů [51]. Nadbytečné lipidy jsou navíc ektopicky ukládány v játrech, srdci a kosterních svalech. Chronický subklinický zánět a změna expresního profilu v tukové tkáni vedou společně s ektopickým ukládáním lipidů u obézních lidí k poškození inzulinové signální kaskády a poruše vychytávání glukózy [52–54].

Právě dysfunkce tukové tkáně, charakterizovaná zvýšenou sekrecí inhibitoru plazminogenového aktivátoru-1 (plasminogen aktivátor inhibitor-1, PAI-1), TNF- α , visfatinu a sníženou sekrecí prospěšných faktorů jako je například adiponektin, je považovaná za hlavní

mechanismus vzniku civilizačních onemocnění jako diabetes mellitus, hyperlipidémie, arteriální hypertenze a ateroskleróza [40].

1.4. Adipokiny

Termínem adipokiny se souborně označují proteiny produkované tukovou tkání [39]. Tyto proteiny fungují jako klasické hormony, které ovlivňují řadu orgánů včetně mozku, svalů, jater a imunitního systému. Adipokiny se také podílejí na regulaci lokální zánětlivé odpovědi [55]. Dysregulace v expresi adipokinů byla popsána u obezity, T2DM a kardiovaskulárních onemocnění. Zdá se, že některé z těchto změn doprovázejí také GDM [56].

Následující text shrnuje současné poznatky o vybraných adipokinech a jejich vztahu k inzulinové rezistenci a rozvoji GDM.

1.4.1. Adiponektin

Adiponektin je protein zvyšující inzulinovou senzitivitu, který je výlučně produkován adipocitami bílé tukové tkáně [57]. Jeho účinky jsou zprostředkovány vazbou na specifické receptory AdipoR1 a AdipoR2, které jsou exprimovány v několika orgánech a tkáních, mimo jiné také v placentě. Aktivací receptorů spouští cAMP-aktivovanou protein kinázu a receptory aktivované peroxizomovým proliferátorem (PPAR) [58]. Adiponektin stimuluje tvorbu protizánětlivého interleukinu (IL-) 10 a potlačuje produkci prozánětlivého interferonu gama (IFN- γ), zvyšuje senzitivitu jater k působení inzulinu, snižuje TNF- α stimulovanou expresi endoteliálních adhezivních molekul a inhibuje zánětlivé účinky lipopolysacharidů [57,59–61]. Adiponektin reguluje syntézu trofoblastu, jelikož působí negativně na produkci lidského choriového gonadotropinu, lidského placentárního laktogenu a progesteronu [62]. Na rozdíl od jiných tkání působí adiponektin v placentě prozánětlivě. Stimuluje produkci prozánětlivých cytokinů a prostaglandinů aktivací NF- κ B, PPAR- γ a extracelulárně regulované kinázy 1/2 [63].

Cirkulující koncentrace adiponektinu nepřímo koreluje s množstvím tělesného tuku. U obézních lidí byla pozorovaná signifikantně nižší hladina [64] stejně jako u jedinců s T2DM [65]. Nízká koncentrace adiponektinu navíc koreluje s parametry subklinického zánětu a

aterogeneze [66]. Vysoký poměr leptin / adiponektin je nezávislým prediktivním faktorem budoucí dyslipidemie u ženy a je spojen se zvýšeným kardiovaskulárním rizikem [67].

Adiponektin je studován také v souvislosti s těhotenstvím a GDM. U těhotných je kromě tukové tkáně za další zdroj považovaná placenta [68,69], ačkoliv novější práce placentární sekreci nepotvrdila [70]. V průběhu těhotenství nebyly pozorovány významné rozdíly v sérové hladině adiponektinu v jednotlivých trimestrech, ale koncentrace v těhotenství byly vyšší oproti těm po porodu [71]. Těhotné ženy s normálním BMI, u kterých byl diagnostikován GDM, se vyznačují sníženou plazmatickou koncentrací adiponektinu [72,73]. Hypoadiponektinémie v časném těhotenství je prediktivním markerem rozvoje GDM ve druhé polovině těhotenství [74,75]. U žen, které prodělaly GDM v těhotenství, přetrvává nezávisle na hmotnosti ženy nebo inzulinové senzitivitě nízká koncentrace také po porodu. Bylo rovněž pozorováno, že sérová koncentrace adiponektinu u těhotné negativně koreluje s porodní hmotností novorozence a nízká plazmatická hladina mateřského adiponektinu je častěji asociovaná s fetální makrosomií [76,77]. Publikovaná data o vlivu GDM na placentární produkci adiponektinu jsou rozporuplná [69,78]. Zdá se však, že placentární produkci adiponektinu a jeho receptorů negativně ovlivňují TNF- α , IFN- γ , IL-6 a leptin [69].

V experimentálním modelu vedla suplementace adiponektinu u obézních myší C57BL / 6J GDM k zvýšení inzulinové senzitivity, normalizaci transplacentárního transportu glukózy a aminokyselin a normalizaci růstu plodu [79].

1.4.2. Leptin

Leptin je hormon, který je produkován převážně bílou tukovou tkání, nicméně jeho exprese byla popsána také v hnědé tukové tkáni, žaludku nebo placentě [80]. Jeho hlavní funkcí je regulace příjmu potravy. Leptin navozuje pocit sytosti, snižuje příjem potravy a zvyšuje energetický výdej [81]. Má také prozánětlivé účinky, které se projevují stimulací rekrutace, diferenciaci a aktivaci makrofágů [82,83].

Sérové hladiny leptinu a exprese mRNA korelují s BMI a obsahem tuku v organismu [84]. Přesto zvýšené koncentrace cirkulujícího leptinu nevedou u obézních k potlačení hyperfagie. Má se za to, že obezita snižuje citlivost na účinky leptinu a vede k tzv. leptinorezistenci [85]. Zvýšené sérové koncentrace jsou také u pacientů s T2DM, nezávisle na BMI [86].

Sérová koncentrace leptinu je signifikantně vyšší v těhotenství a po porodu klesá k hodnotám před těhotenstvím. Naproti tomu sérová koncentrace solubilního leptinového receptoru není signifikantně ovlivněna těhotenstvím, ale po těhotenství se přechodně zvyšuje [87]. Placentární produkce leptinu vaskulárními endoteliálními buňkami koreluje s mateřskou obezitou, ale produkce v syncytiotrofoblastu stejně jako exprese leptinových receptorů se s BMI nemění [88].

Zvýšenou hladinu leptinu lze pozorovat také u žen s GDM. Přestože 8 týdnů po porodu došlo k poklesu koncentrace leptinu, tak nedošlo k úplnému návratu k hodnotám před těhotenstvím. Hladina leptinu navíc korelovala jak s BMI, tak s hmotnostním přírůstkem v průběhu těhotenství [89]. Ve srovnání se zdravými ženami byla u žen s GDM zaznamenána zvýšená produkce leptinu podkožní tukovou a svalovou tkání, přičemž placentární sekrece byla snižena. Tyto změny byly ještě výraznější u žen se závažnější formou GDM, která vyžadovala léčbu inzulinem [90]. V jiné studii byla naopak zaznamenána zvýšená exprese mRNA také v placentě žen s GDM [78]. Zvýšená hladina leptinu v prvním trimestru je také prediktorem rozvoje GDM [91]. To potvrzuje, že leptinový metabolismus je dysregulován u žen s GDM. Mateřská glykémie navíc nepřímo koreluje s mírou metylace lidského leptinového (LEP) lokusu u plodu. U plodů, které se vyvíjí v hyperglykemickém prostředí, se mohou tyto epigenetické změny podílet na budoucím rozvoji obezity [92].

1.4.3. Chemerin

Chemerin sehraňuje úlohu v diferenciaci adipocytů, metabolismu glukózy a lipidů a ovlivňuje vrozenou a získanou imunitu [93]. Hlavním zdrojem chemerinu je tuková tkáň, přičemž vyšší exprese mRNA byla pozorována v podkožní tukové tkáni ve srovnání s viscerální tukovou tkání a u obézních jedinců a žen ve srovnání s muži [94]. V těhotenství je chemerin také produkován dominantně tukovou tkání, pouze v menší míře placentou [95].

Sérová koncentrace chemerinu je signifikantně vyšší u pacientů s T2DM a negativně koreluje s omentinem-1 [96]. Chemerin se tak může podílet na rozvoji obezity indukované inzulinové rezistence. U netěhotné populace sérová koncentrace chemerinu pozitivně koreluje s BMI a koncentrací leptinu, avšak nepodařilo se nalézt korelaci s markery inzulinové rezistence [94]. Zdá se, že spíše než s inzulinovou rezistencí je chemerin asociován

s obezitou. Čím vyšší je koncentrace v krevním séru, tím nižší je mRNA exprese chemerinu v podkožní tukové tkáni [94].

Rovněž u těhotných s GDM byla ve třetím trimestru pozorována signifikantně vyšší sérová koncentrace chemerinu oproti zdravým kontrolám [97,98]. Nezávisle na diagnóze GDM byla vyšší koncentrace pozorovaná u obézních těhotných [95]. Na rozdíl od netěhotné populace, u pacientek s GDM sérová koncentrace korelovala s markery inzulinové rezistence a lačnou glykemií [97]. Chemerin také přímo koreloval s porodní hmotností novorozence [97]. Koncentrace chemerinu je také zvýšena v arteriální pupečnickové krvi u plodů matek s GDM, avšak v tomto případě nebyla asociace s porodní hmotností prokázána [99]. Koncentrace v pupečnickové krvi je přímo úměrná mateřské koncentraci [99]. Jiní autoři nepozorovali zvýšení sérové koncentrace chemerinu u pacientek s GDM [100,101]. Pravděpodobnou příčinou mohu být rozdíly v použitých diagnostických kritériích, velikosti studovaných souborů a průměrném BMI ve studované populaci.

Zvýšená hladina cirkulujícího chemerinu byla také popsána u preeklampsie a korelovala se závažností nemoci [102].

1.4.4. Visfatin

Visfatin byl identifikován v roce 2005 a své pojmenování získal, protože se věřilo, že hlavním zdrojem je viscerální tuková tkáň [103]. Nyní se má za to, že visfatin je ve viscerální tukové tkáni produkován spíše makrofágy, než adipocyty [104,105]. Mezi další zdroje patří hepatocyty, myocyty a placenta [106–108]. Visfatin stimuluje sekreci cytokinů v lymfocytech a má chemotaktické účinky [109]. Autokrinní působení v hepatocytech může mít zásadní roli v regulaci inzulinové senzitivity [110].

Zvýšené plazmatické koncentrace visfatinu byly pozorované u jedinců s nadváhou nebo obezitou, T2DM nebo metabolickým syndromem [111]. Úloha visfatinu v etiopatogenezi GDM není jasná. Někteří autoři udávají zvýšené [112,113], jiní snížené koncentrace u těhotných s GDM [114,115]. Navíc nebyl nalezen rozdíl v expresi mRNA visfatinu v placentě, podkožní nebo viscerální tukové tkáni [108].

Koncentrace visfatinu navíc koreluje s hladinou placentárního sirtuinu 1. Jedná se o nukleární protein, který reguluje buněčné stárnutí, diferenciaci a metabolismus [116,117]. Předpokládá se, že zvýšená hladina visfatinu u obézních žen brání poklesu sirtuinu 1 před

porodem, což může vést k vyšší incidenci potěrné gravidity a přenášení [118]. V jiné práci byl prokázán dokonce přímý inhibiční efekt na kontrakce děložní svaloviny [119].

1.4.5. Omentin

Omentin je adipokin selektivně produkovaný ve viscerální podkožní tukové tkáni, který zvyšuje inzulínovou senzitivitu v adipocytech [120]. V menší míře byla exprese omentinu rovněž pozorována v jiných tkáních, jako jsou intestinální Panethovy buňky nebo stroma viscerální tukové tkáně [121,122]. Omentin se v oběhu vyskytuje ve dvou formách. Dominantní formou je omentin-1. Omentin-2 je homologní protein, který sdílí s omentinem-1 83% podobnost v sekvenci aminokyselin. Geny obou isoform jsou lokalizované v těsné blízkosti v oblasti 1q22-q23, u které byla prokázána asociace s rozvojem T2DM v některých populacích [123].

Snížená koncentrace omentinu byla pozorována v souvislosti s inzulínovou rezistencí a nově diagnostikovaným T2DM [124]. Rovněž byla snížená koncentrace omentinu pozorována u obézních žen a obézních těhotných [120]. U štíhlých těhotných žen byla cirkulující koncentrace nižší, pokud měla těhotná diagnostikovaný GDM, přičemž stejný rozdíl nebyl zaznamenán u obézních těhotných [125]. Předpokládá se, že jak obezita, tak GDM ovlivňují mateřskou produkci omentinu. Naproti tomu obezita neovlivňuje koncentraci omentinu v pupečnickové krvi a GDM neovlivňuje expresi omentinu-1 v placentě a tukové tkáni [125]. Koncentrace omentinu-1 v mateřské krvi koreluje s porodní hmotností plodu [125].

1.4.6. Resistin

Resistin byl poprvé identifikován v adipocytech bílé tukové tkáně myši. Svě jméno získal podle schopnosti zvyšovat inzulínovou rezistenci [126]. Na rozdíl od myši jsou u člověka dominantním zdrojem makrofágy a předpokládá se, že jeho hlavní funkcí je modulace zánětu a stimulace exprese prozánětlivých cytokinů [127]. V průběhu těhotenství je resistin produkován také placentou a jeho syntéza stoupá s gestačním stářím [128]. Resistin podporuje adhezi monocytů k endotelovým buňkám, stimuluje expresi TNF- α a IL-12 v makrofázích [129–131].

Vyšší koncentrace byla zaznamenána u obézních lidí, zejména v přítomnosti současného zánětu [132,133]. Vztah mezi sérovou koncentrací resistinu a GDM není jednoznačný, jelikož studie došly k různým závěrům [90,134–136]. Nebyla zaznamenána rozdílná sekrece resistinu v placentě, plodových obalech, tukové tkáni nebo kosterních svalech u žen s GDM oproti zdravým kontrolám [90]. U těhotných nebyl rovněž prokázán vztah k BMI [137]. Koncentrace resistinu v pupečnickové krvi nebyla ovlivněna přítomností GDM [138].

1.4.7. Vaspin

Vaspin patří do skupiny inhibitorů serinové proteázy, proto je také znám jako serpin A12. Je dominantně produkován viscerální tukovou tkání. Vyšší koncentraci byly pozorovány u lidí s vyšší inzulínovou rezistencí nebo nemocných s T2DM a obezitou [139,140]. Vaspin zlepšuje inzulínovou senzitivitu a jeho koncentrace koreluje s cirkulující koncentrací leptinu, inzulínu a C-peptidu [141]. Předpokládá se, že indukce exprese mRNA ve viscerální tukové tkáni je kompenzačním mechanismem u stavů spojených s vyšší inzulínovou rezistencí [140]. Informace o vlivu GDM na cirkulující koncentraci vaspinu se liší [142–144]. Nicméně se zdá, že mRNA exprese v tukové tkáni je u těhotných s GDM zvýšená [145]. Exprese mRNA placentou se nelišila u žen s GDM a kontrolní skupiny, ale u obou negativně korelovala s porodní hmotností novorozence [143].

1.4.8. Fetuiny

Fetuiny jsou vazebné proteiny, jejichž funkcí je transport široké škály látek v krevním oběhu. Na rozdíl od albuminu, který je hlavním transportním proteinem u dospělých, převládají fetuiny ve fetální krvi skotu, z čehož plyne jejich pojmenování. Rodina fetuinů má u člověka 2 zástupce – fetuin A a fetuin B.

Fetuin A, někdy také označován jako α 2-Heremans-Schmidův glykoprotein, je produkován játry, ale také tukovou tkání [146]. Fetuin A je přirozeným inhibitorem tyrozinkinázy inzulínového receptoru [147]. Navíc je endogenním ligandem toll-like receptoru 4 (TLR4), přes který je zprostředkován stimulační účinek volných mastných kyselin na lokální zánět v tukové tkáni [148], přispívá k prozánětlivému fenotypu makrofágů [149] a indukuje produkci TNF- α , IL1B [150]. In vitro studie také ukazují, že fetuin A potlačuje expresi adipokinů v adipocytech [150].

Plazmatická koncentrace fetuinu A pozitivně koreluje se stupněm inzulinové rezistence [151]. Vyšší cirkulující koncentrace byly pozorované u pacientů s T2DM a metabolickým syndromem [152,153].

V průběhu těhotenství jeho koncentrace roste a po porodu se vrací do normálních hodnot [154]. U žen s GDM byla v průběhu těhotenství zaznamenána vyšší koncentrace fetuinu A [155], což naznačuje možnou úlohu v rozvoji onemocnění.

Koncentrace fetuinu B zvyšuje inzulinovou rezistenci v játrech a svalech. Zvýšená koncentrace byla zaznamenána u pacientů s T2DM a jaterní steatózou, přičemž uhlazení fetuinu B u myši vedlo ke zlepšení inzulinové senzitivity [156].

Stejně jako u Fetuinu A, také Fetuin B byl nalezen ve vyšších koncentracích u těhotných s GDM oproti zdravým kontrolám [157].

1.4.9. Fibroblastový růstový factor 21 (Fibroblast Growth Factor 21, FGF21)

Jako fibroblastové růstové faktory označujeme skupinu 22 hormonů rozdělených do 7 podskupin. Většina se uplatňuje v lokální regulaci buněčného růstu, ale některé také v regulaci metabolismu [158].

FGF21 je protein z rodiny fibroblastových růstových faktorů produkovaných převážně játry a v menší míře tukovou tkání [159]. Produkce v játrech a potažmo cirkulující hladina FGF21 se výrazně zvyšuje při lačnění [160]. FGF21 se váže na vysoce afinitní tyrozinkinázové receptory. Aktivita FGF21 je závislá na vazbě homologního transmembránového proteinu β Klotho na specifický receptor pro FGF [161]. β Klotho je produkován v tukové tkáni, játrech a pankreatu, a proto FGF21 působí právě v těchto tkáních [162]. Stimulace PPAR α receptorů exogenním FGF21 snižuje LDL-cholesterol, zvyšuje HDL-cholesterol a zlepšuje inzulinovou senzitivitu na zvířecích modelech [163]. U myši stimuluje vychytávání glukózy v adipocytech, zlepšuje inzulinovou senzitivitu, snižuje hladinu lipidů a má termogenní účinky [163]. Přitom stimulační efekt FGF21 na vychytávání glukózy je nezávislý na inzulinu a ve srovnání s inzulinem přetrvává efekt déle [161]. Zdá se, že FGF21 zvyšuje expresi glukózového transportéru GLUT1 [163]. V pankreatu zvyšuje podání FGF21 syntézu inzulinu [164].

Zvýšené cirkulující koncentrace FGF21 lze pozorovat u pacientů s obezitou a T2DM [158]. U pacientů, kteří podstoupili bariatrický zákrok, došlo k poklesu sérové koncentrace FGF21 [165].

Protože se předpokládá, že T2DM a GDM mají podobný patofyziologický základ, může se také FGF21 podílet na rozvoji GDM.

Tabulka 1 shrnuje změny v cirkulujících hladinách zmíněných adipokinů u obézních pacientů a žen s GDM.

Tabulka 1. Změny v cirkulujících hladinách vybraných adipokinů u obézních pacientů a žen s GDM

adipokin	Gestační diabetes mellitus	obezita
adiponektin	↓ (Ranheim et al. 2004; Ramirez et al. 2014)	↓ (Haluzik. 2005)
leptin	↑ (Kautzky-Willer et al. 2001)	↑ (Anderlova et al. 2006; Haluzik et al. 1999)
chemerin	↑ (Fatima et al. 2016) ↓ (Hare et al. 2014) +/- (Pfau et al. 2010)	↑ (Tsai et al. 2015; Alfadda et al. 2012)
visfatin	↑ (Krzyzanowska et al. 2006; Lewandowski et al. 2007) ↓ (Chan et al. 2006; Haider et al. 2007)	↑ (Chang et al. 2011)
omentin	↓ (Barker et al. 2012)*	↓ (de Souza Batista et al. 2007; Barker et al. 2012)
resistin	↑ (Kuzmicki et al. 2009; Chen et al. 2007) ↓ (Megia et al. 2008) +/- (Lappas et al, 2005)	↑ (Vozarova de Courten et al. 2004, Piestrzeniewicz et al. 2008) +/- (Hendler et al. 2005)**
vaspin	↑ (Jia et al. 2015; Mm et al. 2014) ↓ (Huo et al. 2015) +/- (Gkiomisi et al. 2013; Stepan et al. 2010)	↑ (Feng et al. 2014)
fetuin A	↑ (Kalabay et al. 2002)	-
fetuin B	↑ (Kralisch et al. 2017)	-
FGF21	-	↑ (Dostalova et al. 2009)

* u neobézních žen s GDM

** u těhotné populace

1.5. Inzulinu podobné růstové faktory a jejich vazebné proteiny

Inzulinu podobné růstové faktory (IGF-1 a IGF-2), v minulosti označované jako somatomediny, jsou jednořetězcové polypeptidy složené z 70 a 67 aminokyselin, které jsou homologní s proinzulinem. Jsou primárně tvořené v játrech, ale místem syntézy jsou také buňky jiných orgánů včetně embryonálních struktur [166,167]. Růstový hormon (somatotropní hormon, STH) produkovaný v adenohipofýze stimuluje expresi genu IGF-1 a zvýšená koncentrace IGF-1 zpětně tlumí sekreci STH [168].

V organismu mají řadu důležitých funkcí. Mezi ty hlavní patří stimulace diferenciaci a migrace buněk a syntézy proteinů [169]. IGF-1 a IGF-2 se podílí na regulaci buněčného cyklu, stimulují buněčné dělení, brzdí apoptózu v některých buňkách, čímž regulují růst jak v embryonálním, tak postnatálním období [170]. Stupeň produkce IGF-1 se v průběhu života fyziologicky mění a kopíruje růstovou křivku člověka, kdy jsou hladiny IGF-1 relativně nízké krátce po narození, postupně rostou v dětství a časně dospělosti a opět se snižují po třicátém roce života [171]. Mimo jiné se IGF podílejí také na kontrole proliferace a diferenciaci adipocytů a monocytů. Tímto způsobem jsou zapojeny do regulace adipogeneze a potenciálně ovlivňují lokální zánět v tukové tkáni, což může mít vliv na rozvoj inzulinové rezistence [172].

Významně se podílejí také na regulaci glukózového metabolismu. IGF-1, a do jisté míry také IGF-2, zvyšují inzulinovou senzitivitu vazbou na IGF receptor typu 1 (IGF-1R) [173,174]. Působí také synergicky s inzulinem na inzulinových receptorech, nicméně jejich schopnost snížit glykémii dosahuje pouhých 5% efektu inzulinu [171].

IGF-2 je důležitý pro fetální i postnatální vývoj, nicméně jeho přesná funkce u dospělých jedinců nebyla dosud zcela objasněna.

IGF-1 a IGF-2 působí přes vazbu na specifické membránové receptory. IGF-1R je homologní s inzulinovým receptorem, pozůstává ze dvou α a dvou β podjednotek a má tyrozinkinázovou aktivitu. IGF-2R je identický s manóza-6-fosfátovým receptorem a nejspíš se podílí na vylučování IGF-2 [175,176].

IGF-1 a IGF-2 jsou v cirkulaci vázané na některý z vazebných proteinů pro inzulinu podobné růstové faktory (IGFBP-1 – IGFBP-7). U dospělých jedinců je většina cirkulujících IGF-1 transportována ve vazbě na IGFBP-3. Tento komplex brání extravaskulárnímu přechodu a působení a tvoří zásobní „pool“ IGF [177,178]. Tímto způsobem je zajištěno

působení IGF v cílových tkáních. IGFBP se tak podílí na regulaci aktivity IGF. Na buněčné úrovni je biologická dostupnost a tím pádem i aktivita IGF regulovaná působením specifických proteáz, které štěpí IGFBP a uvolňují IGF [179].

Nízké hladiny cirkulujícího IGF-1 jsou spojeny se zvýšenou inzulinovou rezistencí [180] a zvýšeným rizikem poruch glukózové tolerance nebo T2DM [181]. Byla také zjištěna korelace mezi IGF-1 a kardiovaskulární mortalitou [182]. Suplementace rekombinantním IGF-1 stále častěji nachází místo v terapii inzulinové rezistence nezávisle na tom, zda jsou pacienti léčeni inzulinem nebo perorálními antidiabetiky. Rekombinantní IGF-1 podávaný pacientům s T2DM vedl k výraznému zlepšení inzulinové senzitivity [183]. Má se za to, že rekombinantní IGF-1 zlepšuje využití glukózy v periferních tkáních a pozitivně ovlivňuje sekreci inzulínu pankreatickými β -buňkami.

V poslední době se systém IGF/IGFBP studuje také v souvislosti s GDM. Bylo zjištěno, že již v prvním trimestru těhotenství koncentrace volného IGF-1 a IGFBP-1 negativně koreluje s rizikem rozvoje GDM [184]. Byla také popsána nižší koncentrace IGFBP-1 u těhotných, kterým byl recentně diagnostikován GDM [73]. Také exprese IGFBP-5 v tukové tkáni byla výrazně nižší u těhotných s GDM oproti těm s normální glukózovou tolerancí [185].

V době porodu byla rovněž zaznamenána snížená koncentrace IGFBP-1 a IGFBP-7 u obézních těhotných a těhotných s GDM [186]. V pupečnickové krvi těhotných žen s GDM byla zjištěna snížená hodnota IGFBP-1 a IGFBP-3 oproti zdravým kontrolám [186]. Nebyl ovšem prokázán vztah mezi koncentrací IGF-1 a IGFBP v pupečnickové krvi a porodní hmotností u novorozenců těhotných s mírnou formou GDM, přestože přítomnost GDM na porodní hmotnost vliv měla [187].

U žen, které měly v těhotenství GDM, byla zvýšená postpartální sérová koncentrace IGF-1 a snížená koncentrace IGFBP-2 spojena s vyšším rizikem rozvoje T2DM. IGF-1 a IGFBP-2 tak lze potenciálně využít v predikci rizika pozdějšího rozvoje T2DM [188].

Je pravděpodobné, že změny v systému IGF/IGFBP se podílí na rozvoji GDM. Navíc se zdá, že tyto změny mohou mít vliv na vývoj plodu a budoucí nastavení metabolismu dítěte stejně tak, jako mohou mít vliv na rozvoj pozdních metabolických komplikací u žen, které měly GDM.

2. HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE

2.1. Hypotéza

Inzulinová rezistence, která je nedostatečně kompenzovaná zvýšenou sekrecí inzulínu beta buňkami pankreatu těhotné, vede k rozvoji GDM. Lze předpokládat, že podobně jako u T2DM se na zvýšení inzulinové rezistence může významnou mírou podílet dysfunkce tukové tkáně

2.2. Cíle práce

- 1) Identifikovat změny v plazmatické koncentraci a mRNA expresi adipokinů fetuinu A, fetuinu B a FGF21 v tukové tkáni a placentě u těhotných s GDM v průběhu těhotenství, porodu a po porodu v porovnání s těhotnými ženami bez GDM a netěhotnými kontrolami.
- 2) Zjistit, zda existuje korelace mezi plazmatickou koncentrací a mRNA expresí fetuinu A, fetuinu B a FGF21 a markery zánětu na systémové úrovni a v tukové tkáni.
- 3) Identifikovat změny v aktivitě systému IGF/IGFBP v tukové tkáni u těhotných s GDM v průběhu těhotenství, porodu a po porodu v porovnání s těhotnými ženami bez GDM a netěhotnými kontrolami.

3. METODIKA

Studie byla schválena Etickou komisí 1. lékařské fakulty a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze a byla provedena v souladu se zásadami Helsinské deklarace Světové lékařské asociace revidované v roce 2008. Po prostudování informací pro pacientky podepsala každá ze zúčastněných žen písemný informovaný souhlas se studií.

3.1. Soubory vyšetřovaných osob, protokoly studií a odběry vzorků

Disertační práce je členěna do dvou částí. První se zabývá stanovením změn v plazmatické koncentraci a mRNA expresi fetuinu A, fetuinu B a FGF21 v tukové tkáni a placentě u těhotných s GDM. Druhá pojednává o změnách aktivity systému IGF/IGFBP v souvislosti s GDM.

3.1.1. Identifikace změn v plazmatické koncentraci a mRNA expresi fetuinu A, fetuinu B a FGF21

Do studie týkající se stanovení fetuinu A, fetuinu B a FGF21 bylo zařazeno 12 zdravých těhotných žen a 12 žen s GDM. GDM byl diagnostikován pomocí 75 g 2-hodinového orálního glukózového tolerančního testu za použití IADPSG kritérií po předchozím 8-hodinovém lačnění. Vylučovací kritéria pro zařazení do studie zahrnovala vícečetné těhotenství, chronické systémové onemocnění nebo jiné těhotenské komplikace známé před nabídnutím účasti ve studii. Do studie bylo také zahrnuto 10 netěhotných žen, které podstoupily laparoskopickou operaci pro benigní gynekologické onemocnění. Všechny zařazené netěhotné ženy byly menoaktivní ve věku do 40 let a nebyly obézní (BMI < 30).

Ženy, kterým byl diagnostikován GDM, byly sledovány a léčeny diabetologem. Základním léčebným opatřením je diabetická dieta a pravidelná pohybová aktivita. Diabetická dieta je nastavena individuálně podle výchozího BMI před těhotenstvím, denní pohybové aktivity, váhového přírůstku a glykemické odpovědi. Vzhledem k opakovaným vyšším hodnotám glykémie byla u jedné těhotné zapotřebí léčba inzulinem od 33. týdne a ve dvou případech bylo zapotřebí podávat perorální antidiabetikum (metformin) od 30. a 31. týdne těhotenství, aby se zajistila adekvátní kompenzace GDM.

Těhotné ženy podstoupily klinické vyšetření a odběr vzorků krve v 28+0 až 32+6 týdnu těhotenství (návštěva 1), 36+0 až 38+6 týdnu těhotenství (návštěva 2) a za 6 až 12 měsíců po porodu (návštěva 3). Ve skupině netěhotných žen bylo před laparoskopickou operací provedeno jedno klinické vyšetření a odběr krve.

U všech těhotných zařazených do studie byla po porodu plodu a opožděném podvazu pupečnicku odebrána smíšená pupečnicková krev. Po porodu placenty byl následně odebrán vzorek tkáně z placentárních kotyledonů.

V případě, že byl ve druhé době porodní proveden nástřih hráze (epiziotomie), byla po porodu provedena biopsie tukové tkáně z epiziotomie. Vzorky tukové tkáně z perinea byly získány od 5 žen bez GDM a 5 žen s GDM. V případě, kdy bylo nutné těhotenství nebo běžící porod ukončit císařským řezem, byla provedena biopsie tukové tkáně z omenta (viscerální tuková tkáň) a podkoží v místě provedené laparotomie podle Pfanennstiela (subkutánní tuková tkáň). Viscerální a subkutánní tuková tkáň byla získána od 6 zdravých těhotných žen a 6 žen s GDM.

Ve skupině netěhotných žen, které podstoupily laparoskopickou operaci, byl vzorek tukové tkáně rovněž odebrán z omenta (viscerální tuková tkáň) a podkoží (subkutánní tuková tkáň) z místa v levém hypogastriu, kde byl standardně zaveden 10mm laparoskopický port.

V této studii jsme se zaměřili na změny plazmatické koncentrace fetuinu A, fetuinu B a FGF21 v průběhu těhotenství a po porodu u fyziologicky probíhajících těhotenství a těhotenství komplikovaných GDM. Stanovili jsme také plazmatické koncentrace ve smíšené pupečnickové krvi. Dále jsme se zaměřili na stanovení lokální mRNA exprese v podkožní (SAT) a viscerální (VAT) tukové tkáni a v placentě. Naměřené hodnoty byly také srovnány s hodnotami u netěhotné populace k posouzení fyziologických změn, které doprovází těhotenství.

3.1.2. Stanovení změn v aktivitě systému IGF/IGFBP v tukové tkáni a na systémové úrovni

Do této studie bylo zařazeno 21 těhotných s GDM (skupina GDM), který byl diagnostikován pomocí 75 g 2-hodinového orálního glukózového tolerančního testu za použití IADPSG kritérií po 8-hodinovém lačnění a 16 zdravých těhotných s negativním screeningem GDM (skupina P). Do studie bylo také zahrnuto 15 netěhotných žen, které podstoupily laparoskopickou operaci pro benigní gynekologické onemocnění (skupina NP). Všechny netěhotné ženy byly menoaktivní ve věku do 40 let a nebyly obézní (BMI < 30).

Ženy, kterým byl diagnostikován GDM, byly sledovány a léčeny diabetologem. Základním léčebným opatřením je diabetická dieta a pravidelná pohybová aktivita. Diabetická dieta je nastavena individuálně podle výchozího BMI před těhotenstvím, denní pohybové aktivity, váhového přírůstku a glykemické odpovědi. Jediná žena byla indikovaná k léčbě inzulinem od 33. týdne těhotenství pro neuspokojivou kompenzaci GDM.

Těhotné ženy podstoupily klinické vyšetření a krevní odběr v 28+0 až 32+6 týdnu těhotenství (návštěva 1), 36+0 až 38+6 týdnu těhotenství (návštěva 2) a za 6 až 12 měsíců po porodu (návštěva 3). Ve skupině netěhotných žen bylo před laparoskopickou operací provedeno jedno klinické vyšetření a krevní odběr.

V případě, že byl ve druhé době porodní proveden nástřih hráze (epiziotomie), byla po porodu provedena biopsie tukové tkáně z epiziotomie. Vzorky tukové tkáně z perinea byly

získány od 5 zdravých těhotných žen a 5 žen s GDM. V případě, kdy bylo nutné těhotenství nebo porod ukončit císařským řezem, byla provedena biopsie tukové tkáně z omenta (viscerální tuková tkáň) a podkoží v místě provedené laparotomie podle Pfanennstiela (subkutánní tuková tkáň). Viscerální a subkutánní tuková tkáň byla získána od 6 zdravých těhotných žen a 6 žen s GDM. Ve skupině netěhotných žen, které podstoupily laparoskopickou operaci, byl vzorek tukové tkáně rovněž odebrán z omenta (viscerální tuková tkáň) a podkoží (subkutánní tuková tkáň) z místa v levém hypogastriu, kde byl zaveden 10 mm laparoskopický port.

Následně jsme analyzovali změny v plazmatických koncentracích IGF a IGFBP v průběhu těhotenství a po porodu u fyziologicky probíhajících těhotenství a těhotenství komplikovaných GDM. Dále jsme se zaměřili na stanovení jejich mRNA exprese v podkožní (SAT) a viscerální (VAT) tukové tkáni a v placentě. Naměřené hodnoty byly srovnány s hodnotami u netěhotné populace k posouzení fyziologických změn, které doprovází těhotenství.

3.2. Zpracování odebraných vzorků

Vzorky krve byly odebrány po nočním lačnění a centrifugovány po dobu 10 minut při 3000x g do 30 minut od odebrání. Vzorky smíšené pupečnickové krve byly odebrány po opožděném podvazu pupečníku a do 30 minut od odběru centrifugovány po dobu 10 minut při 3000x. Alikvoty séra a plasmy byly následně skladovány při teplotě -80°C.

Vzorky tukové tkáně a placenty byly ihned po odebrání umístěny do roztoku RNAlater® (Ambion® - Invitrogen, Carlsbad, Kalifornie, USA) a byly skladovány při teplotě -80°C.

3.3. Měření cirkulujících hladin biochemických analytů

Biochemické parametry (močovina, kreatinin, kyselina močová, celkový bilirubin, alaninaminotransferáza (ALT), aspartátaminotransferáza (AST), γ -glutamyltransferáza (GGT), alkalická fosfatáza (ALP), glykovaný hemoglobin (HbA1c), HDL cholesterol, celkový cholesterol, triglyceridy) byly měřeny a LDL cholesterol byl vypočten na Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. lékařské fakulty a Všeobecné fakultní nemocnice, Praha, Česká republika standardními laboratorními metodami.

3.4. Měření cirkulujících hladin fetuinu A, fetuinu B a FGF21

Plazmatické hladiny fetuinu A byly měřeny pomocí ELISA kitu (Biovendor, Brno, ČR) se senzitivitou 0,104 ng/ml. Plazmatické hladiny fetuinu B byly měřeny pomocí ELISA kitu (Biovendor, Brno, ČR). Senzitivita analýzy byla 0,19 ng/ml. Plazmatické hladiny FGF21 byly stanoveny ELISA kitem (Biovendor, Brno, ČR) se senzitivitou 7 ng/ml.

3.5. Měření IGF a IGFBP pomocí imunochemických metod

Hladiny IGF-1 v séru byly měřeny komerční soupravou EASIA (DIAsource ImmunoAssays S.A., Neuve, Belgie) s citlivostí 7,8 ng/ml. Hladiny sérového IGF-2 byly měřeny pomocí RIA kitu (DIAsource ImmunoAssays S.A., Neuve, Belgie) s citlivostí 0,1 ng/ml. Sérové hladiny IGFBP proteinů byly analyzovány pomocí multiplexového kitu MILLIPLEX MAP Human IGF Binding Protein Magnetic Bead Panel - Metabolism Multiplex Assay (Merck KGaA, Darmstadt, Německo). Senzitivita měření pro IGFBP-1 byla 0,01 ng/ml, pro IGFBP-3 byla 0,12 ng/ml, pro IGFBP-4 byla 0,69 ng/ml, pro IGFBP-6 byla 0,07 ng/ml a pro IGFBP-7 byla 0,04 ng/ml. IGFBP-2 a IGFBP-5 byly pod detekčním limitem metody.

3.6. Měření inzulínu, MCP-1 a leptinu

Hladiny inzulínu, MCP-1 a leptinu v séru byly analyzovány pomocí multiplexové analýzy MILLIPLEX MAP Human Adipokine Magnetic Bead Panel 2 (Merck KGaA, Darmstadt, Německo). Senzitivita měření pro inzulín byla 3,8 pg/ml, pro MCP-1 byla 1,2 pg/ml a pro leptin byla 19 pg/ml.

3.7. Měření zánětlivých faktorů – CRP, IFN- γ , IL-10, IL-6, IL-8 a TNF- α

Hladiny C-reaktivního proteinu (CRP) byly měřeny pomocí instantního ELISA kitu (eBioscience, Vienna, Rakousko) se senzitivitou 3 pg/ml.

Analýza sérových hladin cytokinů byla provedena pomocí multiplexové analýzy MILLIPLEX MAP Human High Sensitivity T Cell Panel (Merck KGaA, Darmstadt, Německo). Senzitivita měření odpovídala pro IFN- γ 0,48 pg/ml, pro IL-10 0,56 pg/ml, pro IL-6 0,11 pg/ml, pro IL-8 0,13 pg/ml a pro TNF- α 0,16 pg/ml.

3.8. Stanovení míry mRNA exprese pomocí kvantitativní polymerázové řetězové reakce v reálném čase v placentě a tukové tkáni

Vzorky tukové tkáně a placenty byly homogenizovány pomocí MagNA Lyser Instrument (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Německo). Celková RNA byla extrahována pomocí analyzátoru MagNA Pure instrument za použití izolačního kitu Magna Pure Compact RNA Isolation kit (tissue) (obojí Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Německo). RNA koncentrace byla určena podle měření absorbance při 260 nm na NanoPhotometer (Implen, Munchen, Německo). Reverzní transkripce byla provedena za použití kitu High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kits (Applied Biosystems, Foster City, Kalifornie, USA). Vstupní množství RNA bylo 250 ug na reakci. Genová exprese byla stanovena na analyzátoru 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), přičemž pro reakci byl použit mix roztoků TaqMan® Universal PCR Master Mix II, NO AmpErase® UNG (Applied Biosystems, Foster City, Kalifornie, USA), vody bez obsahu nukleáz (Fermentas Life Science, Vilnius, Lithuania) a specifických TaqMan® Gene Expression Assays (fetuin A: Hs00155659_m1, fetuin B: Hs00608480_m1, IFN- γ : Hs00174143_m1, IL-6: Hs00174131_m1, IL-8: Hs00174103_m1, TNF- α : Hs00174128_m1, leptin: Hs00174877_m1, beta-2 microglobulin (B2M): Hs 99999907_m1 Applied Biosystems, Foster City, Kalifornie, USA). Beta 2 mikroglobulin byl použit jako endogenní kontrola. Pro výpočet relativní genové exprese byl použit vzorec 2^{-ddCt} .

3.9. Statistická analýza

Statistická analýza byla kalkulována a grafy byly generovány za použití softwaru SigmaPlot 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Výsledky jsou standardně uváděny jako průměr \pm standardní chyba průměru (SEM). K analýze rozdílu mezi jednotlivými skupinami byla dle normality dat využívána One way ANOVA / One way RM ANOVA následovaná Holm-Sidak testem, One way ANOVA on Ranks / One way RM ANOVA on Ranks následovaná Dunnovou metodou, nepárový t-test nebo Mann-Whitney Rank Sum Test, párový test nebo Wilcoxon Signed-Rank. Ke stanovení asociace mezi fetuinem A, fetuinem B, FGF21 a komponenty IGF/IGFBP osy a dalšími měřenými parametry byl použit Spearmanův nebo Pearsonův korelační test. Pro korelační analýzu byly použity výsledky netěhotných a první odběr u těhotných žen (návštěva 1). Ve vybraných případech byla analýza doplněna o užití mnohočetné lineární regrese za použití metody backward stepwise variable selection pro

přesnější predikci významu jednotlivých parametrů. Statistická významnost byla stanovena na $p < 0,05$.

4. VÝSLEDKY

4.1. Stanovení změn v plazmatické koncentraci a mRNA expresi fetuinu A, fetuinu B a FGF21

4.1.1. Charakteristika studované populace, vliv těhotenství a gestačního diabetu na biochemické parametry

Věk žen ve všech třech studovaných skupinách byl srovnatelný. BMI u netěhotných žen ($22,6 \pm 0,98 \text{ kg/m}^2$) a BMI před těhotenstvím u žen s ($23,8 \pm 1,39 \text{ kg/m}^2$) a bez gestačního diabetu ($22,9 \pm 1,09 \text{ kg/m}^2$) se nelišilo ($p = 0,6565$) podobně jako BMI mezi oběma skupinami těhotných pacientek během studijních návštěv.

Byly zaznamenány rozdíly mezi hodnotami některých biochemických parametrů mezi skupinou netěhotných žen a těhotnými s nebo bez GDM při první návštěvě (V1). Tyto změny korespondují s fyziologickými změnami popisovanými v těhotenství. V obou skupinách těhotných žen byla zaznamenána nižší koncentrace kreatininu, kyseliny močové a celkového bilirubinu a vyšší koncentrace celkového cholesterolu, triglyceridů, HDL a LDL cholesterolu. Těhotné ženy s GDM měly oproti těhotným ženám bez GDM vyšší hladinu močoviny a nižší hladinu ALP, přičemž v HbA1c nebyl pozorován významný rozdíl.

Hodnoty všech sledovaných biochemických parametrů z první studijní návštěvy zachovávaly stejné trendy i při druhé návštěvě (V2). Při návštěvě za 6 až 12 měsíců po porodu (V3) nebyl pozorován žádný rozdíl ve sledovaných parametrech mezi ženami, které nebyly těhotné, a ženami po porodu, které neměly GDM. Ženy, které měly v těhotenství GDM, měly po porodu (V3) vyšší hladinu močoviny a ALP ve srovnání s netěhotnými ženami.

U obou skupin těhotných pacientek bylo vyšší CRP v průběhu těhotenství (V1 a V2) ve srovnání se zdravými netěhotnými ženami, přičemž nebyl zaznamenán rozdíl mezi ženami s GDM a zdravými těhotnými. Po porodu (V3) se hladiny CRP snížily na úroveň pozorovanou u skupiny netěhotných žen. Charakteristiku studované populace a hodnoty měřených biochemických markerů uvádí tabulka 2.

Tabulka 2. Charakteristika studované populace, vliv těhotenství a gestačního diabetu na biochemické parametry

Skupina	Netěhotné	Těhotné bez GDM			Těhotné s GDM		
		V1	V2	V3	V1	V2	V3
Počet subjektů (n)	10	12			12		
Věk (let)	33.25 ± 1.23	32.25 ± 0.65	---	---	31.70 ± 1.023	---	---
BMI (kg/m ²)	22.6 ± 0.98	26.04 ± 3.75	27.59 ± 3.54	---	27.63 ± 4.59	28.74 ± 4.63	---
Močovina (mmol/l)	3.66 ± 0.36	2.73 ± 0.13	3.09 ± 0.12	9.59 ± 5.05	3.34 ± 0.20 ^x	3.34 ± 0.20	5.68 ± 0.24 ^{1,2,x,*}
Kreatinin (μmol/l)	61.7 ± 3.1	48.5 ± 1.8 [*]	51.4 ± 2.6	70.0 ± 3.6 ^{1,2}	47.8 ± 2.4 [*]	48.6 ± 2.6 [*]	64.5 ± 2.3 ^{1,2}
Kyselina močová (μmol/l)	271.2 ± 28.9	189.6 ± 7.4 [*]	251.3 ± 12.8 ¹	250.8 ± 14.2 ¹	202.0 ± 13.2	242.5 ± 14.7	281.8 ± 20.0 ^{1,2}
Celkový bilirubin (μmol/l)	12.30 ± 1.96	5.45 ± 0.63 [*]	7.87 ± 1.11	13.13 ± 2.55 ^{1,2}	5.08 ± 0.86 [*]	5.40 ± 0.71 [*]	9.37 ± 1.17 ^{1,2}
ALT (μkat/l)	0.276 ± 0.028	0.375 ± 0.055	0.301 ± 0.025	0.369 ± 0.064	0.287 ± 0.025	0.279 ± 0.043	0.388 ± 0.042
AST (μkat/l)	0.297 ± 0.019	0.382 ± 0.033	0.470 ± 0.053 [*]	0.379 ± 0.037	0.334 ± 0.024	0.360 ± 0.023 ^x	0.357 ± 0.017
ALP (μkat/l)	0.858 ± 0.160	1.375 ± 0.086	1.876 ± 0.445	1.113 ± 0.208	0.230 ± 0.044 ^{x,*}	2.040 ± 0.242 ^{1,*}	1.257 ± 0.126 ^{1,2,*}
GGT (μkat/l)	0.374 ± 0.111	0.161 ± 0.020	0.195 ± 0.038	0.243 ± 0.033	0.111 ± 0.005 [*]	0.125 ± 0.010 [*]	0.257 ± 0.029 ^{1,2}
Celkový cholesterol (mmol/l)	4.05 ± 0.18	7.35 ± 0.36 [*]	7.58 ± 0.55 [*]	5.40 ± 0.43 ^{1,2}	6.76 ± 0.49 [*]	7.04 ± 0.41 [*]	4.68 ± 0.27 ^{1,2}
Triglyceridy (mmol/l)	0.647 ± 0.097	2.345 ± 0.222 [*]	2.640 ± 0.328 [*]	0.861 ± 0.106 ^{1,2}	2.274 ± 0.430 [*]	2.458 ± 0.237 [*]	1.122 ± 0.203 ^{1,2}
HDL cholesterol (mmol/l)	1.37 ± 0.13	2.31 ± 0.17 [*]	2.29 ± 0.25 [*]	2.00 ± 0.17 ^{1,2}	2.22 ± 0.15	2.31 ± 0.16 [*]	1.75 ± 0.13 ^{1,2}
LDL cholesterol (mmol/l)	2.21 ± 0.17	3.99 ± 0.23 [*]	3.60 ± 0.29	3.02 ± 0.36 ^{1,2}	3.89 ± 0.38	3.63 ± 0.34	2.43 ± 0.25 ^{1,2}
HbA1c (mmol/l)	---	32.0 ± 1.1	35.0 ± 1.4 ¹	35.5 ± 0.7 ¹	32.3 ± 1.4	34.6 ± 1.3	35.7 ± 1.6 ¹
CRP (mg/ml)	0.323 ± 0.093	1.231 ± 0.165 [*]	0.959 ± 0.124 [*]	0.441 ± 0.092 ^{1,2}	1.694 ± 0.468 [*]	1.335 ± 0.289 [*]	0.567 ± 0.117 ^{1,2}

V1: 28⁺⁰ až 32⁺⁶, V2: 36⁺⁰ až 38⁺⁶, V3: 6 až 12 měsíců po porodu. Výsledek prezentován jako průměr ± SEM. * p<0.05 vs. skupina netěhotných žen, One way ANOVA/ANOVA on Ranks. ¹ p<0.05 vs. návštěva V1, One Way repeated measures ANOVA/One way repeated measures ANOVA on Ranks. ² p<0.05 vs. návštěva V2, One Way repeated measures ANOVA/One way repeated measures ANOVA on Ranks. ^x p<0.05 vs. těhotné ženy bez GDM, nepárový t-test nebo Mann-Whitney Rank Sum Test.

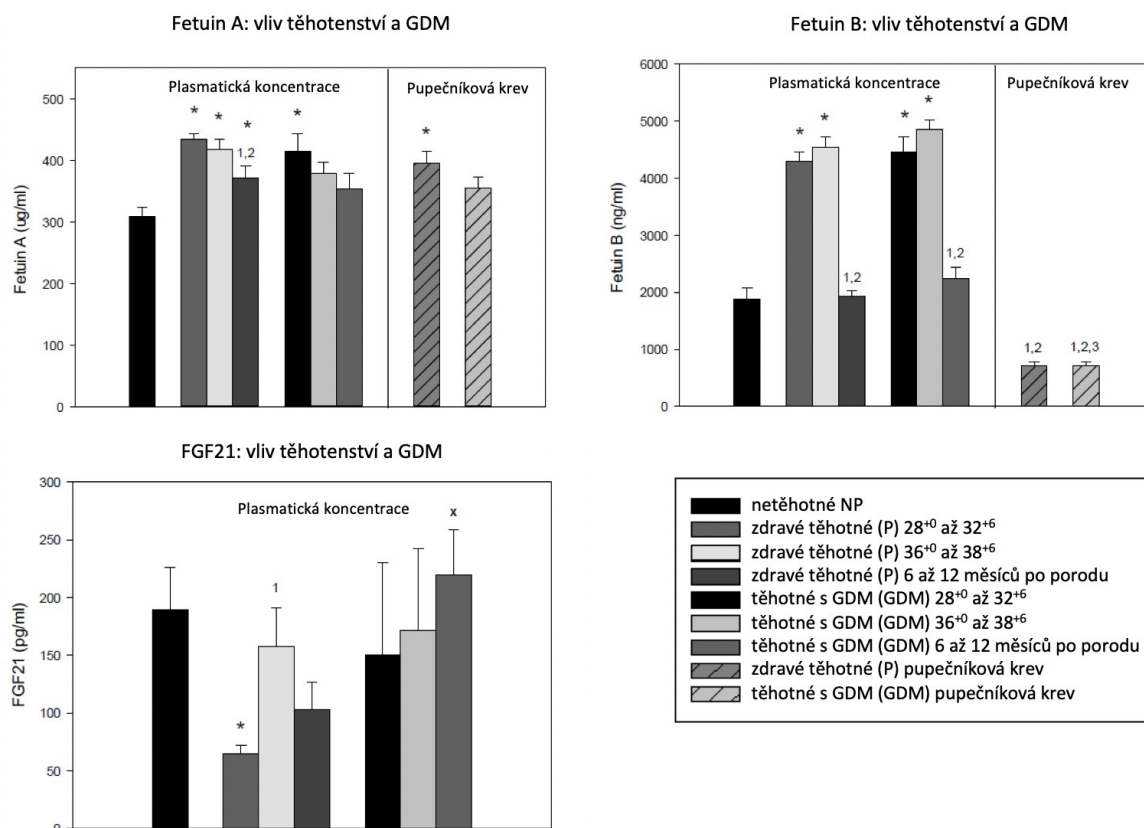
4.1.2. Vliv těhotenství a gestačního diabetes mellitus na plazmatickou koncentraci fetuinu A, fetuinu B a FGF21 v mateřské a smíšené pupečnickové krvi

Ve srovnání s netěhotnými měly zdravé těhotné ženy vyšší plazmatickou hladinu fetuinu A během celého těhotenství (návštěvy V1 a V2) a po porodu (návštěva V3), přestože po porodu koncentrace významně poklesla. Skupina žen s GDM vykazovala podobné trendy plazmatické koncentrace fetuinu A vzhledem k netěhotným ženám (NP), avšak signifikantně vyšší hladina byla zaznamenána pouze při první návštěvě (návštěva V1), zatímco hodnoty při dalších návštěvách (návštěvy V2 a V3) se významně nelišily. Nebyly zjištěny žádné významné rozdíly v plazmatické koncentraci fetuinu A mezi skupinou zdravých těhotných a těhotných s GDM. Koncentrace fetuinu A v pupečnickové krvi byly vyšší u těhotných žen bez GDM ve srovnání se skupinou GDM. Vliv těhotenství a GDM na plazmatickou koncentraci fetuinu A v mateřské a smíšené pupečnickové krvi ukazuje obrázek 2.

Obě skupiny těhotných žen měly vyšší hladiny fetuinu B v průběhu těhotenství (návštěvy V1 a V2) ve srovnání s netěhotnými. Následně došlo po porodu (návštěva V3) u obou skupin k poklesu koncentrace fetuinu B na úroveň srovnatelnou s koncentrací u netěhotných žen. Žádné rozdíly v plazmatické koncentraci fetuinu B mezi skupinou zdravých těhotných a těhotných s GDM nebyly zjištěny. Rovněž nebyl rozdíl v plazmatické koncentraci fetuinu B ve smíšené pupečnickové krvi. Vliv těhotenství a GDM na plazmatickou koncentraci fetuinu B v mateřské a smíšené pupečnickové krvi ukazuje obrázek 2.

Plazmatické koncentrace FGF21 významně kolísaly mezi jednotlivými ženami ve všech třech skupinách. Ve srovnání s netěhotnými byla u zdravých těhotných zaznamenána nižší koncentrace FGF21 při první návštěvě (V1), avšak koncentrace při druhé návštěvě (V2) a po porodu (V3) se významně nelišily. Nebyl zjištěn rozdíl v koncentraci FGF21 u těhotných s GDM a netěhotných žen. V průběhu těhotenství se koncentrace FGF21 také výrazně nelišila mezi skupinou zdravých těhotných a těhotných s GDM. Za 6 až 12 měsíců po porodu (V3) však byla zaznamenána výrazně vyšší koncentrace FGF21 u žen, které měly těhotenství komplikované GDM. Vliv těhotenství a GDM na plazmatickou koncentraci fetuinu B v mateřské krvi ukazuje obrázek 2.

Obrázek 2: Vliv těhotenství a GDM na plazmatickou hladinu fetuinu A, fetuinu B a FGF21 v mateřské a smíšené pupečnickové krvi.



Koncentrace FGF21 nebyla stanovena v pupečnickové krvi. V1: 28⁺⁰ až 32⁺⁶, V2: 36⁺⁰ až 38⁺⁶, V3: 6 až 12 měsíců po porodu. Výsledky prezentovány jako průměr ± SEM (standard error of mean). * p<0.05 vs. skupina netěhotných žen, One way ANOVA/ANOVA on Ranks. ¹ p<0.05 vs. návštěva V1, One Way repeated measures ANOVA/One way repeated measures ANOVA on Ranks. ² p<0.05 vs. návštěva V2, One Way repeated measures ANOVA/One way repeated measures ANOVA on Ranks. ^x p<0.05 vs. skupina těhotných žen bez GDM, nepárový t-test nebo Mann-Whitney Rank Sum Test

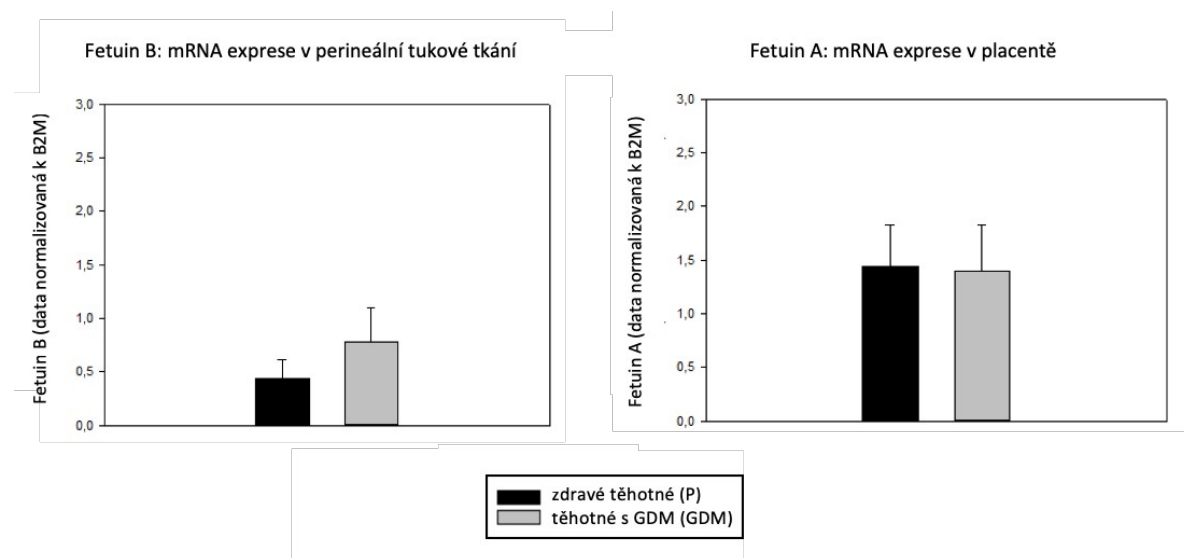
4.1.3. Vliv těhotenství a gestačního diabetes mellitus na expresi mRNA fetuinu A, fetuinu B a FGF21 v tukové tkáni a placentě

Expresie mRNA fetuinu A a FGF21 v perineální tukové tkáni byla pod detekčním limitem, zatímco slabá mRNA exprese fetuinu B (na hranici detekce použité metody) v perineální tukové tkáni byla pozorována. Nebyl nalezen rozdíl v mRNA expresi fetuinu B mezi ženami s a bez GDM.

Expresie mRNA fetuinu B v placentě nebyla detekována, zatímco mRNA exprese fetuinu A byla detekována v placentě, ale nelišila se mezi těhotnými ženami s a bez GDM. Expresie mRNA FGF21 byla detekována v polovině vzorků z placenty. Data jsou prezentována na obrázku 3.

Dále jsme se zaměřili na stanovení rozdílu mezi expresí mRNA fetuinu A a fetuinu B v podkožní (SAT) a viscerální (VAT) tukové tkáni. Nepodařilo se detekovat expresi mRNA fetuinu A v žádném ze dvou kompartmentů. V polovině vzorků podkožní tukové tkáně (SAT) byla nalezena pouze slabá exprese mRNA fetuinu B. Data nejsou prezentována.

Obrázek 3: Vliv GDM na expresi mRNA fetuinu B v perineální tukové tkáni a mRNA expresi fetuinu A v placentě.



P: těhotné ženy bez GDM, GDM: těhotné ženy s GDM, B2M: beta-2 mikroglobulin. Výsledky prezentovány jako průměr \pm SEM (standard error of mean). * $p < 0,05$ vs. těhotné ženy bez GDM, nepárový t-test nebo Mann-Whitney Rank Sum Test.

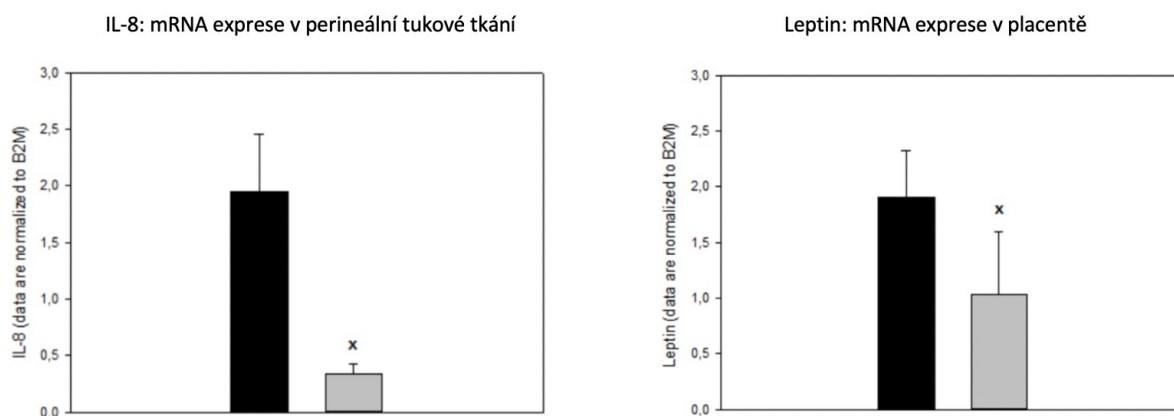
4.1.4. Vliv těhotenství a gestačního diabetes mellitus na zánětlivé cytokiny

U zdravých těhotných žen byly cirkulující hladiny IL-6 při první návštěvě (V1) nižší ve srovnání s následující návštěvou (V2) a hladinou po porodu (V3). Podobný trend nebyl zaznamenán ve skupině těhotných s GDM. Ve skupině zdravých těhotných došlo k významnému zvýšení cirkulující hladiny IL-10 po porodu (V3). Hladina IL-10 byla při první návštěvě (V1) signifikantně vyšší u těhotných s GDM než u zdravých těhotných žen, přičemž při dalších návštěvách (V2 a V3) podobný rozdíl nebyl zaznamenán. Během celé studie byly hladiny TNF- α konzistentně vyšší u těhotných žen s GDM ve srovnání se zdravými těhotnými ženami. Tento rozdíl přetrvával také při odběru za 6 až 12 měsíců po porodu. Plazmatické koncentrace studovaných cytokinů jsou uvedené v tabulce 3.

V perineální tukové tkáni byla vyšší mRNA exprese IL-8 u žen bez GDM, zatímco mRNA exprese TNF- α , IFN- γ , IL-6 a leptinu se mezi skupinami těhotných žen nelišila (data nejsou uvedena).

Placentární mRNA exprese leptinu byla vyšší u zdravých těhotných žen. Naproti tomu se placentární mRNA exprese TNF- α , IFN- γ , IL-6 a IL-8 mezi skupinami nelišila (data nejsou uvedena). Signifikantní rozdíly ukazuje obrázek 4.

Obrázek 4: Vliv GDM na mRNA expresi IL-8 v perineální tukové tkáni a leptinu v placentě.



P: těhotné ženy bez GDM, GDM: těhotné ženy s GDM, B2M: beta-2 mikroglobulin. Výsledky prezentovány jako průměr \pm SEM (standard error of mean). ^x p < 0,05 vs. těhotné ženy bez GDM, nepárový t-test nebo Mann-Whitney Rank Sum Test.

Tabulka 3. Vliv těhotenství a GDM na plazmatickou koncentraci zánětlivých cytokinů.

Skupina	Netěhotné	Těhotné bez GDM				Těhotné s GDM			
		V1	V2	V3	pupečnicková krev	V1	V2	V3	pupečnicková krev
IFN-γ (pg/ml)	27,36 \pm 2,76	16,55 \pm 2,30	19,27 \pm 2,94	19,41 \pm 3,34	---	19,18 \pm 3,31	20,58 \pm 4,17	24,46 \pm 5,98	---
IL-6 (pg/ml)	6,45 \pm 1,54	2,78 \pm 0,37	3,69 \pm 0,29 ¹	3,75 \pm 0,49 ¹	3,75 \pm 1,31	4,33 \pm 0,81	5,02 \pm 1,13	5,93 \pm 1,81	5,78 \pm 2,13
IL-8 (pg/ml)	9,24 \pm 2,18	4,94 \pm 0,52	5,84 \pm 0,62	5,91 \pm 0,36	13,07 \pm 4,19 ¹	5,78 \pm 0,53	6,31 \pm 0,75	7,79 \pm 0,83	10,22 \pm 1,43 ¹
IL-10 (pg/ml)	32,97 \pm 6,62	9,29 \pm 1,79 *	10,25 \pm 1,71 *	16,71 \pm 3,36 ^{1 2}	---	20,88 \pm 3,86 ^x	17,93 \pm 4,65	17,34 \pm 4,48	---
TNF-α (pg/ml)	9,16 \pm 1,44	3,88 \pm 0,52 *	5,18 \pm 0,99 *	5,12 \pm 0,90 *	6,37 \pm 0,88	10,99 \pm 1,81 ^x	12,16 \pm 1,74 ^x	12,13 \pm 2,10 ^x	19,46 \pm 4,39 ^x

IFN: interferon. IL: interleukin. V1: 28⁺⁰ až 32⁺⁶, V2: 36⁺⁰ až 38⁺⁶, V3: 6 až 12 měsíců po porodu. Výsledek prezentován jako průměr \pm SEM. * p<0.05 vs. skupina netěhotných žen, One way ANOVA/ANOVA on Ranks. ¹ p<0.05 vs. návštěva V1, One Way repeated measures ANOVA/One way repeated measures ANOVA on Ranks. ² p<0.05 vs. návštěva V2, One Way repeated measures ANOVA/One way repeated measures ANOVA on Ranks. ^x p<0.05 vs. skupina těhotných žen bez GDM, nepárový t-test nebo Mann-Whitney Rank Sum Test.

4.1.5. Vztah fetuinu A, fetuinu B a FGF21 k dalším studovaným parametrům

Plazmatická koncentrace fetuinu A pozitivně korelovala s koncentrací kyseliny močové ($R = 0,897$, $p = 0,025$) a CRP ($R = 0,379$, $p = 0,032$) a negativně s koncentrací kreatininu ($R = -0,372$, $p = 0,036$) a celkového bilirubinu ($R = -0,396$, $p = 0,025$). Plazmatická koncentrace Fetuinů A a B pozitivně korelovala ($R = 0,497$, $p = 0,003$). Navíc byla pozorována korelace mezi fetuinem A a mRNA expresí TNF- α v perineální tukové tkáni ($R = 0,699$, $p = 0,035$) a mRNA expresí IL-6 v placentě ($R = 0,468$, $p = 0,021$).

Plazmatické koncentrace fetuinu B pozitivně korelovaly s triglyceridy ($R = 0,497$, $p = 0,013$) a CRP ($R = 0,466$, $p = 0,007$) a negativně s celkovým bilirubinem ($R = -0,391$, $p = 0,027$).

Plazmatické hladiny FGF21 pozitivně korelovaly s kreatininem ($R = 0,410$, $p = 0,020$), GGT ($R = 0,436$, $p = 0,023$) a nepřímo s koncentrací ALP ($R = -0,484$, $p = 0,041$) a LDL cholesterolu ($R = -0,451$, $p = 0,027$). FGF21 pozitivně koreloval s mRNA expresí IFN- γ v perineální tukové tkáni ($R = 0,685$, $p = 0,025$) a negativně koreloval s mRNA expresí IL-8 v placentě ($R = -0,500$, $p = 0,013$).

4.2. Identifikace změn v aktivitě systému IGF/IGFBP v souvislosti s těhotenstvím a porodem

4.2.1. Charakteristika studované populace, vliv těhotenství a gestačního diabetes mellitus na biochemické parametry

Věk žen ve všech třech skupinách byl srovnatelný. BMI netěhotných žen (skupina NP; $22,7 \pm 0,8$ kg / m²) a BMI před těhotenstvím u žen s (skupina GDM; $25,4 \pm 1,1$ kg / m²) a bez GDM (skupina P; $24,0 \pm 1,1$ kg / m²) se významně nelišily ($p = 0,285$).

Byly zaznamenány rozdíly mezi hodnotami některých biochemických parametrů mezi skupinou netěhotných žen a těhotnými s nebo bez GDM při první návštěvě (V1). Tyto změny korespondují s fyziologickými změnami popisovanými v těhotenství. V obou skupinách těhotných žen byla zaznamenána nižší koncentrace kreatininu, kyseliny močové a celkového bilirubinu a vyšší koncentrace celkového cholesterolu, triglyceridů. Těhotné ženy s GDM měly oproti těhotným ženám bez GDM nižší celkový bilirubin, celkový cholesterol, triglyceridy a LDL cholesterol, přičemž v HbA1c nebyl pozorován významný rozdíl. Hodnoty

všech sledovaných biochemických parametrů z první studijní návštěvy zachovávaly stejné trendy i při druhé návštěvě (V2). Při návštěvě za 6 až 12 měsíců po porodu (V3) byly pozorovány vyšší koncentrace ALT a AST oproti netěhotným kontrolám (NP). Charakteristika studované populace a naměřené hodnoty biochemických parametrů uvádí Tabulka 4.

Tabulka 4. Charakteristika studované populace, vliv těhotenství a gestačního diabetu na biochemické parametry

	Netěhotné ženy (NP)	Těhotné ženy s GDM (GDM)			Těhotné ženy bez GDM (P)		
		V1	V2	V3	V1	V2	V3
Počet subjektů (n)	15	21			16		
Věk (let)	36.2 ± 0.52	36.2 ± 0.9	---	---	34.5 ± 1.0	---	---
Body mass index (kg/m ²)	22.7 ± 0.8	28.1 ± 1.0	29.1 ± 0.9 ¹	---	27.5 ± 1.1	28.9 ± 1.3 ¹	---
HbA1c (mmol/mol)	32.7 ± 1.3	32.1 ± 0.9	35.1 ± 1.0 ¹	35.0 ± 0.9 ²	31.6 ± 0.9	34.5 ± 1.2 ¹	35.1 ± 0.8 ¹
Kreatinin (mmol/l)	66.9 ± 2.1	47.7 ± 1.5 *	50.5 ± 2.42 *	65.6 ± 1.7 ^{1,2}	51.3 ± 2.7 *	52.6 ± 2.7 *	71.1 ± 3.1 ^{1,2}
Kyselina močová (mmol/l)	259.2 ± 13.5	205 ± 8.0 *	243 ± 11.1 ¹	290 ± 13.6 ^{1,2}	204 ± 15.1 *	255 ± 13.0 ¹	265 ± 18.1 ¹
Urea (mmol/l)	3.92 ± 0.27	3.09 ± 0.16 *	3.28 ± 0.21	5.28 ± 0.27 ^{*,1,2}	2.77 ± 0.12 *	3.14 ± 0.10	4.88 ± 0.29 ^{1,2}
Celkový bilirubin (mmol/l)	12.07 ± 1.36	4.18 ± 0.49 *	4.58 ± 0.59 *	9.47 ± 1.12 ^{1,2}	5.29 ± 0.47 ^{x,*}	6.55 ± 0.95 *	12.34 ± 1.85 ^{1,2}
Celkový cholesterol (mmol/l)	4.44 ± 0.31	5.96 ± 0.28 *	6.70 ± 0.32 *	4.44 ± 0.27 ^{1,2}	7.32 ± 0.33 ^{x,*}	7.704 ± 0.41 *	5.14 ± 0.36 ^{1,2}
Triglyceridy (mmol/l)	0.61 ± 0.09	1.93 ± 0.24 *	2.85 ± 0.24 ^{*,1}	1.00 ± 0.15 ^{1,2}	2.49 ± 0.22 ^{x,*}	2.69 ± 0.25 *	0.81 ± 0.08 ^{1,2}
LDL cholesterol (mmol/l)	2.62 ± 0.29	3.11 ± 0.25	3.10 ± 0.24	2.32 ± 0.22 ^{1,2}	4.03 ± 0.20 ^{x,*}	3.88 ± 0.26 ^x	2.99 ± 0.28 ^{1,2}
HDL cholesterol (mmol/l)	1.53 ± 0.28	2.11 ± 0.09	2.20 ± 0.11	1.67 ± 0.11 ^{1,2}	2.31 ± 0.14	2.31 ± 0.18	1.95 ± 0.13 ^{1,2}
ALT (μkat/l/ml)	0.247 ± 0.02	0.299 ± 0.03	0.299 ± 0.03	0.429 ± 0.04 ^{*,1,2}	0.329 ± 0.05	0.284 ± 0.02	0.325 ± 0.05 ^x
AST (μkat/l/ml)	0.287 ± 0.02	0.338 ± 0.02	0.405 ± 0.03 *	0.415 ± 0.03 ^{*,1}	0.370 ± 0.03 *	0.451 ± 0.043 *	0.352 ± 0.03 ^x
GGT (μkat/l/ml)	0.347 ± 0.12	0.135 ± 0.02	0.163 ± 0.03	0.323 ± 0.04 ^{1,2}	0.173 ± 0.02	0.180 ± 0.03	0.242 ± 0.03
fT4 (pmol/l)	13.49 ± 1.35	11.52 ± 0.93	---	---	11.84 ± 0.39	---	---
TSH (pmol/l)	2.51 ± 0.86	1.76 ± 0.18	---	---	1.75 ± 0.25	---	---
Inzulin (pg/ml)	123.1 ± 23.93	393.5 ± 47.4 *	414.3 ± 53.4 *	339.8 ± 45.1 *	776.6 ± 211.9 *	813.0 ± 187.5 *	258.2 ± 30.8 ^{1,2}
Leptin (pg/ml)	4.78 ± 1.34	20.28 ± 2.12 *	23.13 ± 2.70 *	25.20 ± 4.75 *	27.65 ± 4.70 *	32.10 ± 5.82 *	16.05 ± 4.34 ^{1,2}

NP: netěhotné ženy, P: těhotné ženy bez GDM, GDM: těhotné ženy s GDM. V1: 28⁺⁰ až 32⁺⁶, V2: 36⁺⁰ až 38⁺⁶, V3: 6 až 12 měsíců po porodu. Výsledek prezentován jako průměr ± SEM. * p<0.05 vs. skupina NP, One way ANOVA/ANOVA on Ranks. ¹ p<0.05 vs. návštěva V1, One Way repeated measures ANOVA/One way repeated measures ANOVA on Ranks. ² p<0.05 vs. návštěva V2, One Way repeated measures ANOVA/

4.2.2. Vliv těhotenství a gestačního diabetes mellitus na sérové koncentrace IGF a IGFBP

Sérové hladiny IGF-1 byly zvýšené v průběhu těhotenství (GDM a P, návštěvy V1 a V2) ve srovnání s netěhotnými ženami (NP) a klesly po porodu (návštěva V3). Vyšší koncentrace IGF-2 proti netěhotným (NP) byla pozorována pouze žen s GDM (GDM) na konci třetího trimestru (návštěva V2). Následně došlo v této skupině (GDM) k dalšímu zvýšení sérové koncentrace IGF-2 po porodu (návštěva V3). Koncentrace IGF-2 po porodu (návštěva V3) tak byla signifikantně vyšší než u žen, které v těhotenství GDM neměly (P).

Koncentrace IGFBP-1 se v průběhu těhotenství (P a GDM) nelišily od koncentrace u netěhotných žen (NP). Po porodu (návštěva V3) však došlo u obou skupin (P a GDM) k poklesu sérové koncentrace, ve skupině těhotných s GDM (GDM) dokonce k hodnotám nižším než u netěhotné populace (NP).

V průběhu těhotenství (P, GDM; návštěva V1 a V2) byla pozorována zvýšená sérová koncentrace IGFBP-3 ve srovnání s netěhotnými (NP), přičemž koncentrace byly vyšší u těhotných s GDM (GDM). Po porodu (návštěva V3) došlo k poklesu koncentrace IGFBP-3 u obou skupin těhotných žen (P a GDM), ale u pacientek, které měly těhotenství komplikované GDM, přetrvávala vyšší koncentrace.

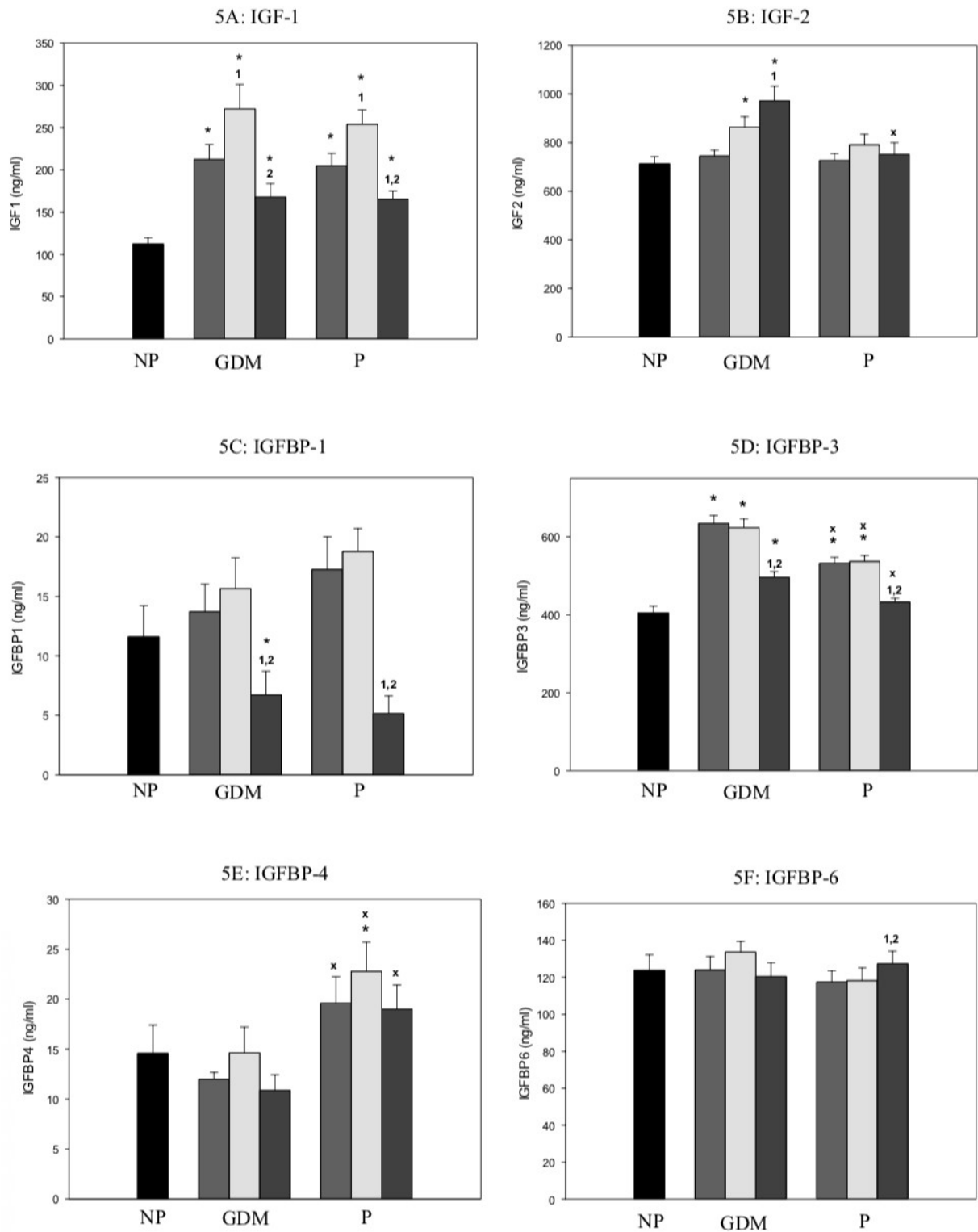
V průběhu celého sledování byla u těhotných s GDM (GDM) pozorována nižší sérová koncentrace IGFBP-4 oproti zdravým těhotným (P).

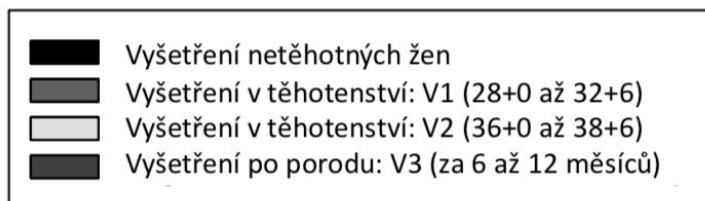
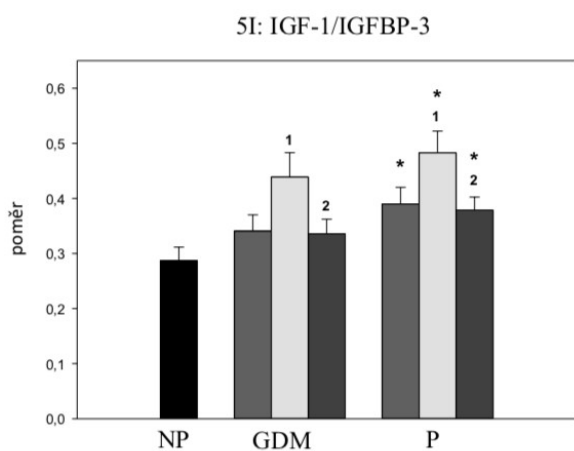
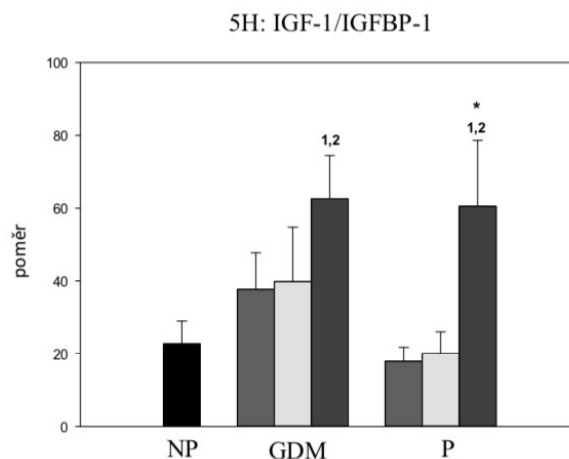
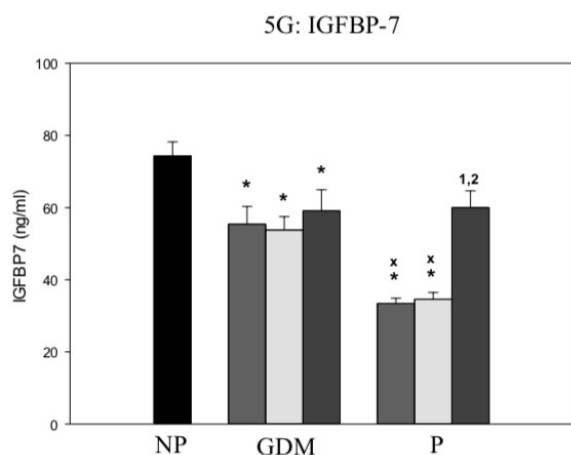
U těhotných s GDM (GDM) nedošlo po porodu (návštěva V3) ke zvýšení koncentrace IGFBP-6, který byl pozorován ve skupině zdravých těhotných (P).

Sérové koncentrace IGFBP-7 byly během těhotenství (návštěvy V1 a V2) nižší u obou skupin těhotných (P a GDM) oproti netěhotným ženám (NP), přičemž u zdravých (P) byla koncentrace nižší než u nemocných (GDM). Po porodu došlo ke zvýšení koncentrace u žen bez GDM (P).

Poměr IGF-1 / IGFBP-1 vzrostl po porodu u obou skupin těhotných žen. Naproti tomu došlo ke zvýšení IGF-1 / IGFBP-3 po porodu u obou sledovaných skupin (P a GDM). Poměr byl ve skupině zdravých těhotných zvýšený v průběhu celého sledování (návštěvy V1, V2 a V3) oproti hodnotám ve skupině netěhotných žen. Vliv těhotenství a gestačního diabetes mellitus na sérové koncentrace IGF a IGFBP ukazuje obrázek 5A-I.

Obrázek 5A-I. Sérová koncentrace IGF a IGFBP: vliv těhotenství a GDM





IGF: insulin-like growth factor, IGFBP: IGF binding protein, NP: netěhotné ženy, GDM: těhotné ženy s GDM, P: těhotné ženy bez GDM. V1: 28⁺⁰ až 32⁺⁶, V2: 36⁺⁰ až 38⁺⁶, V3: 6 až 12 měsíců po porodu. Výsledky prezentovány jako průměr ± SEM (standard error of mean). * p<0.05 vs. skupina NP, One way ANOVA/ANOVA on Ranks. ¹ p<0.05 vs. návštěva V1, One Way repeated measures ANOVA/One way repeated measures ANOVA on Ranks. ² p<0.05 vs. návštěva V2, One Way repeated measures ANOVA/One way repeated measures ANOVA on Ranks. ^x p<0.05 vs. skupina GDM, nepárový t-test nebo Mann-Whitney Rank Sum Test.

4.2.3. Exprese mRNA IGF, vazebných proteinů a receptorů u žen s GDM, zdravých těhotných a netěhotných kontrol

U netěhotných žen byla IGF-1 mRNA exprese nižší v podkožní (SAT) ve srovnání s viscerální tukovou tkání (VAT). Stejný rozdíl nebyl zaznamenán u zdravých těhotných kontrol, u těhotných s GDM byla dokonce mRNA IGF-1 exprese vyšší v podkožní (SAT) než ve viscerální (VAT) tukové tkáni. Exprese ve viscerální tukové tkáni byla u těhotných s GDM výrazně nižší oproti zdravým těhotným. Exprese IGF-1 mRNA v podkožní (SAT) tukové tkáni byla u netěhotných nižší ve srovnání s oběma skupinami těhotných žen a nebyla ovlivněna přítokností GDM.

Exprese mRNA IGF-2 u netěhotných žen byla vyšší ve viscerální ve srovnání s podkožní tukovou tkání. U těhotných s GDM byla mRNA exprese IGF-2 ve viscerální tukové tkáni sice nižší než u netěhotných kontrol, ale mezi těhotnými s a bez GDM nebyl v expresi zaznamenán žádný rozdíl.

U těhotných žen s GDM byla exprese mRNA IGF-1R nižší ve viscerální i podkožní tukové tkáni ve srovnání s netěhotnými ženami, ale také ve srovnání s těhotnými bez GDM.

Exprese mRNA IGF-2R u těhotných žen s GDM byla ve viscerální tukové tkáni nižší ve srovnání s těhotnými bez GDM, ale také ve srovnání s netěhotnými ženami. Na rozdíl od ostatních sledovaných skupin byla u žen s GDM vyšší exprese mRNA IGF-2R v podkožní než viscerální tukové tkáni.

Exprese mRNA IGFBP-2 byla u netěhotných žen vyšší v podkožní tukové tkáni ve srovnání s viscerální, přičemž v těhotenství došlo k obrácení poměru u žen s i bez GDM. Důvodem byla signifikantně vyšší exprese ve viscerální tukové tkáni, přičemž exprese v podkožním tuku se výrazně nelišila.

Exprese mRNA IGFBP-3 u netěhotných v podkožní tukové tkáni byla nižší ve srovnání s těhotnými. Nebyl však nalezen žádný rozdíl v mRNA IGFBP-3 expresi mezi těhotnými s a bez GDM.

Exprese mRNA IGFBP-4 byla u netěhotných žen nižší v podkožní, ale také viscerální tukové tkáni ve srovnání s těhotnými ženami. Oproti těhotným ženám s GDM byla ve srovnání se zdravými těhotnými vyšší exprese ve viscerálním tuku.

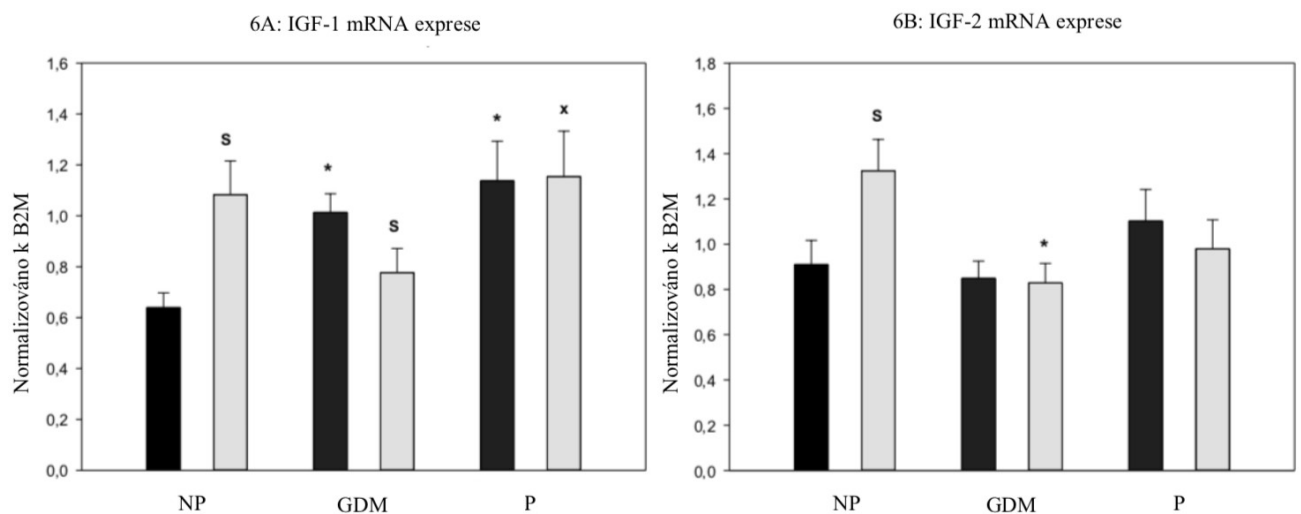
Expres mRNA IGFBP-5 u netěhotných žen byla nižší v podkožní ve srovnání s viscerální tukovou tkání. Taktéž byla exprese v podkožní tukové tkáni vyšší v obou skupinách těhotných žen.

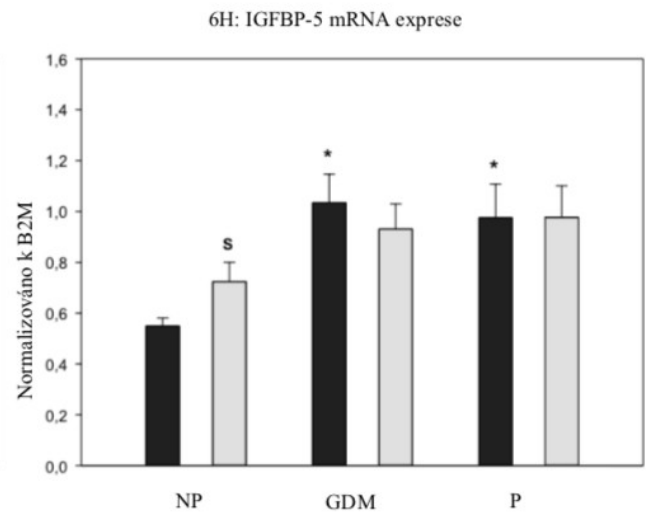
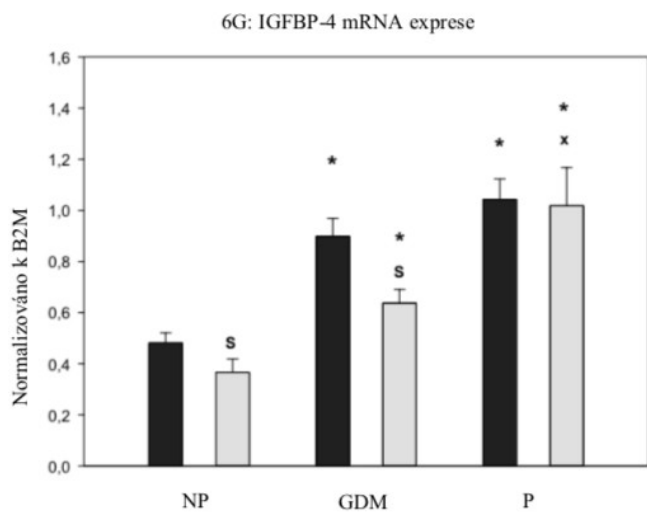
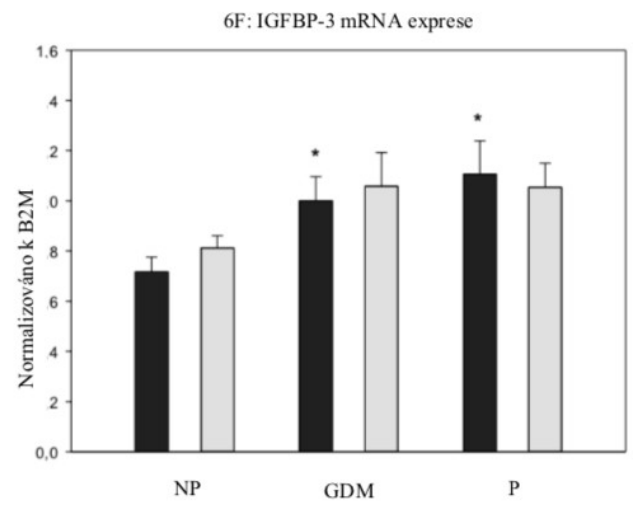
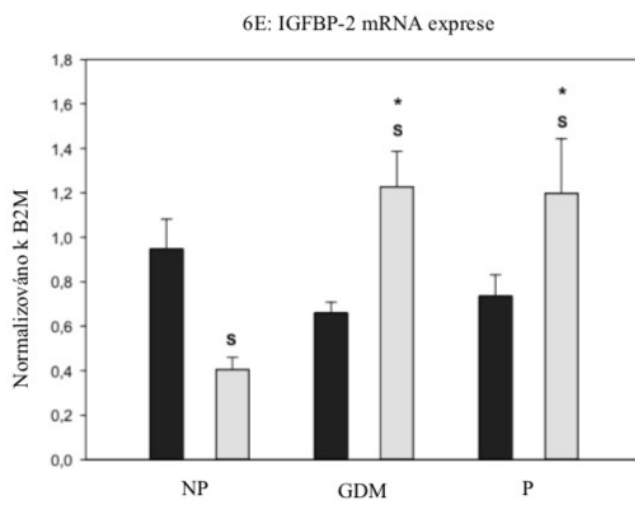
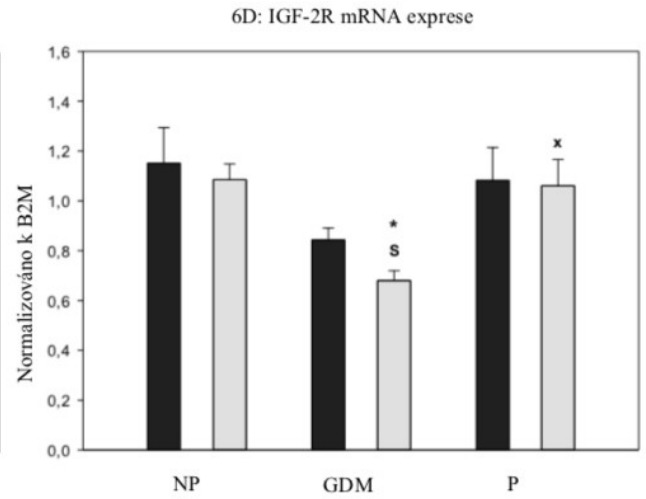
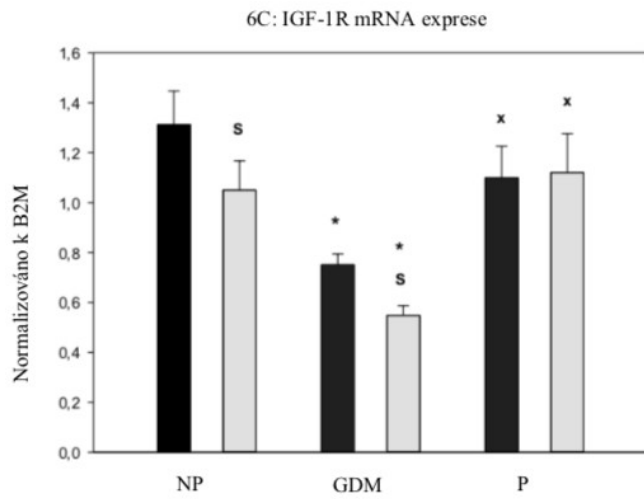
Také exprese mRNA IGFBP-6 byla u netěhotných žen vyšší v podkožní ve srovnání s viscerální tukovou tkání. Nebyly však zaznamenány žádné rozdíly v expresi u těhotných.

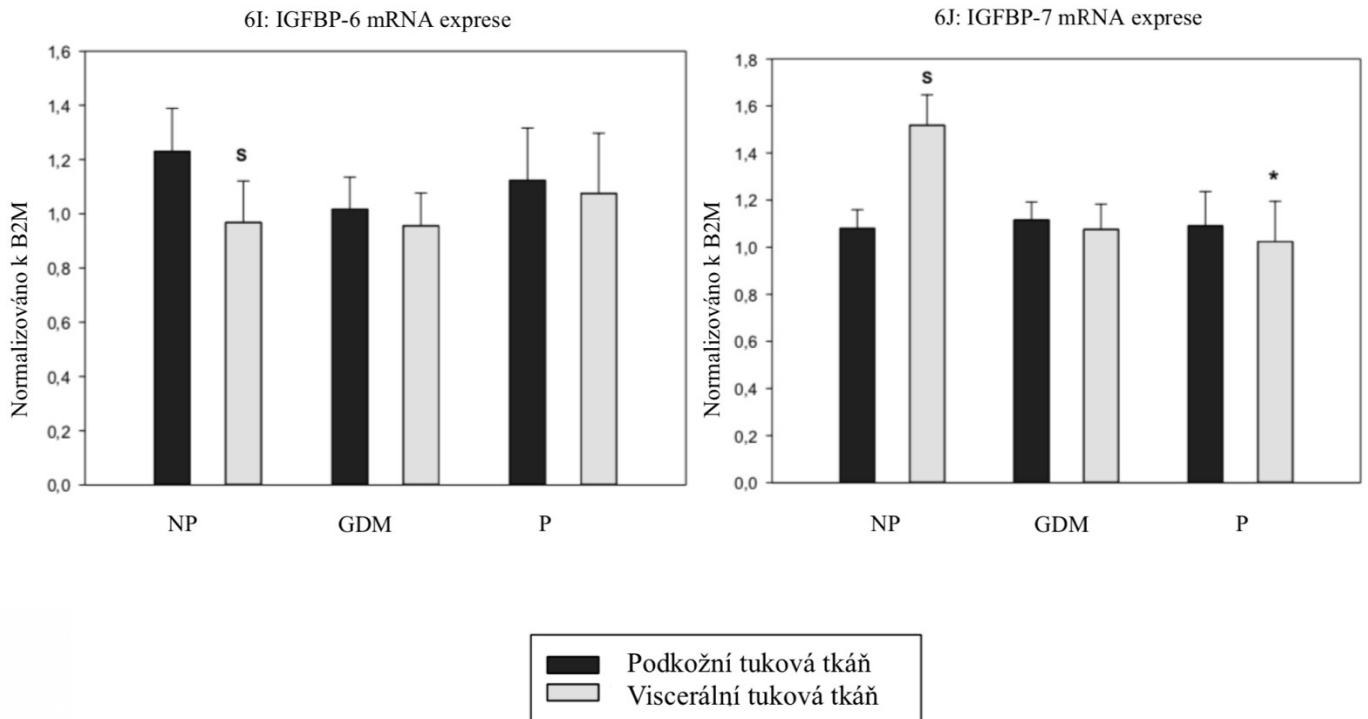
Expres mRNA IGFBP-7 u netěhotných byla nižší v podkožní než ve viscerální tukové tkáni. Podobné rozdíly nebyly pozorované u těhotných žen. Pouze u těhotných bez GDM byla mRNA IGFBP-7 exprese nižší ve viscerální tukové tkáni oproti netěhotným.

Expresi mRNA, receptorů a vazebných proteinů v podkožní a viscerální tukové tkáni ve studované populaci zobrazuje obrázek 6A-J.

Obrázek 6A-J. Tkáňová exprese mRNA IGF, jejich receptorů a vazebných proteinů: vliv těhotenství a GDM







IGF: insulin-like growth factor, IGFR: insulin-like growth factor receptor, IGFBP: IGF binding protein, NP: netěhotné ženy, GDM: těhotné ženy s GDM, P: těhotné ženy bez GDM. Výsledky prezentovány jako průměr ± SEM (standard error of mean). * $p < 0.05$ vs. skupina NP, One way ANOVA/ANOVA on Ranks. ^s $p < 0.05$ vs. podkožní tuková tkáň, paired test Wilcoxon Signed-Rank, ^x $p < 0.05$ vs. skupina GDM, nepárový t-test nebo Mann-Whitney Rank Sum Test.

4.2.4. Vztah IGF a IGFBP k jiným studovaným parametrům

IGF-1 pozitivně koreloval s celkovým cholesterolem ($R = 0,438$, $p = 0,012$), HDL cholesterolem ($R = 0,554$, $p = 0,002$), inzulinem ($R = 0,511$, $p < 0,001$) a leptinem ($R = 0,675$, $p < 0,001$) a negativně s kreatininem ($R = -0,426$, $p = 0,002$), kyselinou močovou ($R = -0,340$, $p = 0,026$) a celkovým bilirubinem ($R = -0,440$, $p = 0,002$). IGFBP-1 pozitivně koreloval s AST ($R = 0,303$, $p = 0,031$). IGFBP-3 pozitivně koreloval s BMI ($R = 0,570$, $p = 0,001$), ALP ($R = 0,477$, $p = 0,025$), inzulinem ($R = 0,480$, $p = 0,001$) a leptinem ($R = 0,619$, $p = 0,001$) a negativně s močovinou ($R = -0,283$, $p = 0,044$), kreatininem ($R = -0,562$, $p < 0,001$) a celkovým bilirubinem ($R = -0,641$, $p < 0,001$). IGFBP-4 pozitivně koreloval s ALT ($R = 0,315$, $p = 0,026$) a AST ($R = 0,315$, $p = 0,026$). IGFBP-7 pozitivně koreloval s kreatininem ($R = 0,366$, $p = 0,009$), celkovým bilirubinem ($R = 0,361$, $p = 0,009$) a negativně s ALP ($R = -0,662$, $p = 0,001$), celkovým cholesterolem ($R = -0,409$, $p = 0,018$), HDL cholesterolem ($R = -0,428$, $p = 0,017$) a leptinem ($R = -0,367$, $p = 0,008$).

5. DISKUZE

Prevalence obezity ve fertilním věku celosvětově roste a v současnosti je, spolu s vyšším věkem těhotné, nejčastějším rizikovým faktorem řady těhotenských komplikací, jako jsou GDM, gestační hypertenze, preeklampsie, tromboembolie, sepse, závažné poporodní hemoragie [189]. Mimo to ohrožuje plod vyšším výskytem potratu nebo nitroděložního úmrtí plodu, vrozených vývojových vad, předčasného porodu a dětské mozkové obrny [190]. Výchozí hmotnost před otěhotněním, BMI ženy a vyšší věk jsou vůbec nejsilnějšími rizikovými faktory rozvoje GDM [191]. Prevalence GDM exponenciálně stoupá s rostoucím BMI, avšak není zanedbatelná ani u neobézních žen. U těhotných s BMI $< 30 \text{ kg/m}^2$ se prevalence odhaduje na 7,8% [192]. Navíc jsou negativní důsledky GDM a obezity na výsledek těhotenství v mnoha ohledech podobné a koincidence obou u těhotné rizika násobně zvyšuje. Obezita je spojena s dysfunkcí tukové tkáně [47]. Je pravděpodobné, že dysfunkce tukové tkáně, která se podílí na zvýšení inzulinové rezistence, se zásadně podílí také na rozvoji GDM.

Jedním z hlavních témat této práce byla charakterizace změn plazmatické koncentrace a lokální exprese fetuinu A, fetuinu B a FGF21 v tukové tkáni u fyziologicky probíhajícího

těhotenství a GDM a jejich možný vztah k markerům subklinického zánětu a metabolismu glukózy. Zároveň jsme studovali změny aktivity systému IGF/IGFBP u pacientek s GDM, a to jak na systémové, tak lokální úrovni v tukové tkáni.

V naší studii jsme zjistili, že plazmatické hladiny fetuinu A jsou během fyziologicky probíhajícího těhotenství zvýšené. Zvýšenou koncentraci oproti netěhotným ženám jsme zaznamenali také u těhotných s GDM, ale pouze mezi 28+0 až 32+6 týdnem těhotenství. Koncentrace fetuinu A v průběhu těhotenství se nelišila mezi ženami s GDM a zdravými těhotnými. Fetuin A byl již v minulosti studován v souvislosti se vztahem k GDM a jiným těhotenským patologiím. V jedné z předchozích studií byla zaznamenána vyšší sérová koncentrace fetuinu A ve druhém a třetím trimestru těhotenství u žen s GDM ve srovnání se zdravými ženami [155], nicméně další práce, podobně jako my, rozdíl nepotvrdily [193]. V jiné studii byla zjištěna vyšší sérová koncentrace fetuinu A u žen s GDM mezi 24+0 až 27+6 oproti kontrolní skupině, která pozitivně korelovala s HbA1c [154]. Zvýšená sérová koncentrace fetuinu A byla také popsána u dětí a dospělých s obezitou [194]. Na rozdíl od zmíněných prací měly naše pacientky GDM léčbou dobře kompenzovaný a HbA1c se nelišil od zdravých těhotných. Stejně tak nebyly mezi oběma studovanými skupinami těhotných žen zaznamenané rozdíly ve výchozím BMI před nebo v průběhu těhotenství. To by mohlo zčásti vysvětlovat, proč jsme nedospěli ke stejnému závěru. Po 6 až 12 měsících po porodu došlo k signifikantnímu poklesu plazmatické koncentrace fetuinu A u zdravých těhotných. U žen s GDM byl trend podobný, ale pokles nedosáhl statistické významnosti. Z našich výsledků se zdá, že u neobézních žen s dobře kompenzovaným GDM se fetuin A významným způsobem nepodílí na rozvoji onemocnění.

Ačkoliv byla ve zvířecích studiích prokázána exprese fetuinu A v podkožní a viscerální tukové tkáni [195], tak v naší studii se nepodařilo prokázat mRNA expresi fetuinu A v perineální, podkožní, ani viscerální tukové tkáni. Ve vzorcích placenty jsme prokázali expresi fetuinu A, avšak nenalezli jsme rozdíl mezi skupinou zdravých těhotných a těhotných s GDM. Fetuin A byl studován také v souvislosti s preeklampií, kdy byla jeho sérová koncentrace naopak nižší oproti zdravým kontrolám [196]. Jelikož je preeklampsie vždy spojena s placentální dysfunkcí, podporuje to naše zjištění, že placenta je významným zdrojem fetuinu A v těhotenství.

Na myších studiích bylo prokázáno, že volné mastné kyseliny indukují přes NF- κ B expresi fetuinu A v hepatocytech [197]. Volné mastné kyseliny také stimulují lokální zánět v

tukové tkáni přes TLR-4. Nicméně k produkci prozánětlivých cytokinů docházelo pouze za současné přítomnosti fetuinu A [148]. Fetuin A je tak zapojen do regulace lokálního zánětu v tukové tkáni, který zvyšuje periferní inzulinovou rezistenci. V naší studii jsme prokázali, že plazmatická koncentrace fetuinu A korelovala s koncentrací CRP a lokální mRNA expesí prozánětlivého TNF- α v perineální tukové tkáni.

Ačkoliv bylo zjištěno, že fetuin A zvyšuje periferní inzulinovou rezistenci, nepodařilo se nám prokázat jeho vliv na patogenezi GDM v naší skupině pacientek s výbornou kompenzací GDM a BMI srovnatelným se zdravými kontrolami. Výjimkou tak mohou být těhotné, které navíc trpí obezitou a případy, kdy GDM není léčbou adekvátně kompenzován.

Podle nedávno publikované studie [157] byly sérové koncentrace fetuinu B během těhotenství zvýšené u žen s GDM ve srovnání se zdravými těhotnými a po porodu došlo k významnému poklesu koncentrace. V našem souboru se rozdíl nepodařilo prokázat. U obou skupin těhotných žen jsme pozorovali stejné zvýšení plazmatické koncentrace fetuinu B během těhotenství. Po porodu koncentrace fetuinu B klesla u obou skupin k hodnotám srovnatelným se stavem před těhotenstvím. Také v tomto případě lze vysvětlení různých závěrů hledat v lepší kompenzaci GDM v naší populaci, srovnatelném BMI, ale také srovnatelných hodnotách triglyceridů v séru. Ukázalo se totiž, že steatóza jater je spojená se zvýšenou syntézou fetuinu B v játrech, která negativně ovlivňuje inzulinovou rezistenci. Utlumení exprese fetuinu B u myši vedlo ke zlepšení inzulinové sensitivity [156]. Také v naší studii jsme pozorovali pozitivní korelaci mezi hladinami plazmatického fetuinu B a triglyceridy.

Co se týče mRNA exprese fetuinu B v tukové tkáni, byla pozorovaná pouze slabá exprese na hranici detekce dané metody, a to pouze v některých vzorcích perineální tukové tkáně. Placentální mRNA exprese byla detekovaná pouze u některých žen. Za dominantní zdroj fetuinu B v lidském organismu v průběhu těhotenství tak lze považovat játra.

V případech, kdy bylo těhotenství komplikováno GDM, byla v průběhu celé studie pozorována vyšší koncentrace prozánětlivého TNF- α , přičemž vyšší koncentrace protizánětlivého IL-10 byla zaznamenána pouze na začátku třetího trimestru, tj. v 28+0 až 32+6 týdnu těhotenství. GDM tak může být, podobně jako T2DM, provázen subklinickým zánětem. Na rozdíl od jiné studie nebyl tento stav spojen s vyšší sérovou koncentrací CRP

[198]. Otázkou nadále zůstává, jaký dopad může mít subklinický zánět u žen s GDM na budoucí zdraví potomků. V nedávné studii se u zdravých žen nepotvrdila asociace mezi markery subklinického zánětu ve třetím trimestru těhotenství, včetně TNF- α , s markery metabolického syndromu u potomků v časně dospělosti [199]. Nicméně podobná data u pacientek, jejichž těhotenství bylo komplikované GDM, scházejí.

Zajímavé bylo zjištění, že koncentrace TNF- α byla také zvýšená ve smíšené pupečnickové krvi novorozenců matek s GDM, což v jiné studii pozorováno nebylo [200]. Cytokiny mají schopnost přecházet z mateřské do fetální cirkulace [201]. Tímto způsobem může GDM ovlivňovat fetální programování a zvyšovat riziko pozdějších zdravotních komplikací u potomků [202].

Hladina zánětlivých cytokinů v naší studii nekorelovala s fetuinem A nebo B. Byla zaznamenána pouze korelace mezi fetuinem B a hladinami CRP, zatímco u fetuinu A nebyl takový vztah detekován. Z výsledků naší studie se zdá, že GDM doprovází subklinický zánět, ale fetuin A ani fetuin B nejsou významnými regulátory tohoto zánětu.

Na rozdíl od fetuinu A a fetuinu B byly koncentrace FGF21 během těhotenství zatížené vysokým stupněm individuální variability, a to zejména ve skupině žen s GDM. Podobně variabilní koncentrace FGF21 byly nalezeny také v jiné publikované studii zaměřené na obézní subjekty [165]. Stejně jako v jiné studii [203], ani nám se nepodařilo prokázat zvýšenou koncentraci FGF21 u těhotných s GDM tak, jak bylo publikováno dalšími autory [204,205].

V jedné studii [206] byla pozorována zvýšená placentární mRNA exprese FGF21 u pacientek s GDM. Autoři však neprokázali přítomnost FGF21 v pupečnickové krvi, a tak se domnívají, že placentární ani mateřský FGF21 neprochází do fetálního kompartmentu a považují jej spíše za regulátor mateřského metabolismu. To je ovšem v rozporu s další prací, kde koncentrace FGF21 v pupečnickové krvi korelovala s mateřskou koncentrací, ale také s postnatálním BMI, kdy byly děti sledovány až do 4 let věku [204]. V naší studii jsme mRNA expresi prokázali pouze v polovině vzorků z placenty, a to bez ohledu na přítomnost GDM. Koncentraci FGF21 v pupečnickové krvi jsme nestanovovali.

Co však mají výše zmíněné studie společné, je nález pozitivní korelace mezi cirkulující koncentrací FGF21 a inzulinovou rezistencí [204,205]. K účinkům FGF21 patří stimulace glukoneogeneze v játrech a indukce lipolýzy v bílé tukové tkáni [207] společně se

stimulací mRNA exprese inzulínu v pankreatu a cirkulující koncentrace [158]. Zajímavým zjištěním bylo to, že koncentrace FGF21 byla v naší studii výrazně zvýšená 6 až 12 měsíců po porodu u žen, které měly GDM. Změny koncentrace FGF21 tak nemusí být pouze přechodnou záležitostí, ale mohou signalizovat predispozici k poruchám glukózového metabolismu v pozdějším období. Podobně zvýšené koncentrace FGF21 totiž nalzáme také u pacientů s obezitou, T2DM [158], arteriální hypertenzí a aterosklerózou [207]. Zvýšená koncentrace FGF21 po porodu může také vysvětlovat, proč mají ženy s anamnézou GDM vyšší tendenci k rekurenci onemocnění v dalším těhotenství, přestože v mezidobí netrpí zjevnou poruchou glukózové tolerance.

Systém IGF/IGFBP je důležitým regulátorem růstu, ale má také významné metabolické účinky. Zásadním způsobem se podílí na regulaci metabolismu glukózy. Uplatňuje se na systémové, lokální a autokrinní úrovni. Jedním ze zdrojů IGF a IGFBP je také tuková tkáň [208].

Druhá část disertační práce se zaměřuje na změny v systémové koncentraci a lokální expresi jednotlivých složek systému IGF/IGFBP u pacientek s GDM.

Z našich výsledků vyplývá, že těhotenství vedlo ke zvýšení sérové koncentrace IGF-1. Ačkoliv došlo po těhotenství k rychlému poklesu IGF-1, tak zvýšená koncentrace přetrvávala ještě 6 až 12 měsíců po porodu. Změny v systémové koncentraci IGF-2 oproti stavu před těhotenstvím nebyly tak výrazné. Podobná dynamika hladin IGF-1 a IGF-2 byla pozorována i v jiných studiích [209,210]. Přítomnost GDM nevedla k významnému ovlivnění systémové koncentrace IGF-1 a IGF-2 v těhotenství. K podobnému závěru dospěli také další autoři [209,210]. V jiné studii byla naopak nalezena vyšší sérová koncentrace IGF-1 v průběhu těhotenství u žen s GDM ve srovnání se zdravými těhotnými kontrolami [211].

Koncentrace obou růstových faktorů vykazovala ve dvou sledovaných skupinách během těhotenství různou dynamiku. Zatímco u zdravých těhotných a těhotných s GDM sérové hladiny IGF-1 vzrostly během těhotenství a významně klesly po porodu, zvýšená sérová hladina IGF-2 přetrvávala u žen, které měly GDM ještě několik měsíců po skončení těhotenství a byla vyšší oproti ženám bez GDM. Tohle zjištění je v rozporu s jinou prací, ve které autoři popsali okamžitý pokles koncentrace obou růstových faktorů po porodu bez

ohledu na přítomnost GDM, což naznačuje významný podíl placentární produkce na celkové koncentraci [212].

Podobně IGFBP-3, hlavní vazebný protein IGF v séru, který slouží jako cirkulující rezervoár pro IGF-1, byl signifikantně zvýšen v obou skupinách těhotných ve srovnání s netěhotnými ženami a jeho sérové hladiny se snížily po porodu. Sérové hladiny IGFBP-3 byly významně vyšší u žen s GDM ve srovnání se zdravými těhotnými kontrolami. Lze předpokládat, že vyšší hladiny IGFBP-3 u žen s GDM by mohly částečně přispět ke snížení biologické dostupnosti IGF-1 u subjektů s GDM. Zvýšená koncentrace IGFBP-3 v krevním séru byla pozorována také u pacientů s inzulinovou rezistencí a T2DM [213] a je některými autory považována za rizikový faktor rozvoje metabolických poruch [214]. Pokud se však podíváme na poměr sérového IGF-1 / IGFBP-3, tak v naší studii nebyl pozorován mezi dvěma skupinami těhotných žen rozdíl.

IGFBP-1 je dalším vazebným proteinem a důležitým modulátorem biologické dostupnosti IGF-1. Vzhledem k tomu, že jeho produkce v játrech je nepřímou regulována koncentrací inzulinu v portální krvi, očekávali jsme rozdílnou koncentraci u žen s GDM, jelikož je do jisté míry GDM spojen s relativní inzulinovou deficiencí. Překvapivě však byla srovnatelná s koncentrací u zdravých těhotných a dokonce také u netěhotných žen. Naproti tomu jiná studie udává mírné, ale významné snížení koncentrace IGFBP-1 u GDM [215]. Přitom se má za to, že zvyšování hladin IGFBP-1 je přímo úměrné nárůstu inzulinové rezistence [214]. V takovém případě by snížení sérových hladin IGFBP-1 po porodu, které jsme v naší studii pozorovali, mohlo být spojeno s vyšší dostupností IGF-1 a tím s poklesem inzulinové rezistence do výchozího stavu před těhotenstvím.

Experimentální studie na diabetických potkanech identifikovaly změny v lokální expresi mRNA IGF /IGFBP, které se v různé míře projevují na sérové koncentraci. Obecně se shodují na tom, že u potkanů s diabetem na podkladě nedostatečné sekrece inzulinu je dominantní změnou snížení sérové koncentrace IGFBP-3. V menší míře byla pozorována zvýšená exprese IGFBP-1 v játrech, která se ale neprojevila významným zvýšením sérové koncentrace [216–218]. Léčba inzulinem vedla k úpravě exprese zmiňovaných faktorů. Námi pozorované změny v cirkulujících koncentracích u pacientek s GDM jsou přesným opakem a lze tedy předpokládat, že osa IGF / IGFBP reaguje jinak u T1DM a GDM, T2DM, tj. stavů spojených primárně s inzulinovou rezistencí, nikoliv nedostatečnou sekrecí inzulinu.

IGFBP-4 potlačuje signalizaci IGF-1 a poměr IGF-1 / IGFBP-4 je důležitým regulátorem expandibility tukové tkáně [219]. U pacientek s GDM jsme pozorovali sníženou expresi IGFBP-4 mRNA ve viscerální tukové tkáni stejně jako snížené sérové koncentrace, což může naznačovat sníženou schopnost hypertrofie viscerální tukové tkáně, potažmo vyšší tendenci k její dysfunkci.

Dalším lokálním transkriptem, který má vztah k expandibilitě tukové tkáně, je IGFBP-5. Snížená exprese v tukové tkáni byla pozorována u těhotných s GDM [185], ale v naší studii nebyla potvrzena.

V naší studii nebyla pozorována rozdílná sérová koncentrace IGFBP-6 mezi skupinami těhotných žen narozdíl od IGFBP-7, kde byla ve skupině s GDM vyšší sérová koncentrace v průběhu těhotenství.

Dále jsme se zabývali úlohou osy IGF / IGFBP na lokální úrovni v tukové tkáni. Ve viscerální tukové tkáni jsme u žen s GDM zjistili nižší mRNA expresi IGF-1 stejně jako nižší expresi receptorů IGF-1R a IGF-2R. Rovněž byla snížená exprese IGFBP-4, přičemž nebyl zaznamenán rozdíl v ostatních vazebných proteinech. V podkožní tukové tkáni byla taktéž zaznamenána nižší exprese IGF-1R u pacientek s GDM. Lze tedy konstatovat, že aktivita systému IGF-1 ve viscerální a podkožní tukové tkáni je nižší u těhotných žen s GDM ve srovnání se zdravými těhotnými. Tyto změny na úrovni viscerální tukové tkáně se mohou významnou mírou podílet na zvýšené periferní inzulinové rezistenci u pacientek s GDM. Snížení lokální mRNA exprese IGF-1, IGF-1R a IGFBP-3 v podkožní tukové tkáni bylo také nalezeno u pacientů s T2DM [220,221]. Tyto změny mohou ovlivňovat schopnost podkožní tukové tkáně skladovat lipidy a mohou se podílet na regulaci subklinického zánětu v tukové tkáni [221].

Výše prezentované původní studie limituje relativně malá velikost sledovaných souborů, což mohlo mít za následek širší intervaly spolehlivosti a způsobit, že jsme nenalezli některé další významné rozdíly. Menší počet vzorků tukové tkáně je důsledkem toho, že odběr mohl být proveden pouze u žen, které byly indikovány k císařskému řezu nebo kterým byla provedena epiziotomie. S ohledem na etické aspekty bylo snahou vyhnout se zbytečnému traumatu rodiček během porodu, proto nebyla prováděna biopsie tukové tkáně u pacientek, které žádné porodní poranění neměly.

Na druhé straně lze říct, že jednotlivé skupiny sledovaných žen byly relativně homogenní a vyznačovaly se srovnatelným BMI. Také počet pacientek, které vyžadovaly farmakoterapii GDM nad rámec dietních a režimových opatření, byl nízký. Lze se tedy domnívat, že předložené výsledky skutečně dokumentují změny, které se dějí při GDM a nejsou důsledkem obezity nebo inzulinoterapie.

6. ZÁVĚR

Prezentované výsledky ukazují, že koncentrace fetuinu A a fetuinu B jsou zvýšené v těhotenství, přičemž se nezdá, že by GDM výrazně ovlivňoval jejich systémovou koncentraci. Koncentrace FGF21 vykazovala poměrně velkou individuální variabilitu, ale signifikantní změny v koncentraci nebyly mezi skupinami pozorovány, přestože trendy byly rozdílné. Změny v systémových koncentracích mohou být součástí fyziologických změn v těhotenství.

Důležitým zjištěním bylo, že ženy, které měly v těhotenství GDM, mají ještě několik měsíců po porodu výrazně vyšší koncentraci FGF21, což může z části vysvětlovat zvýšenou dispozici k opakování GDM v dalším těhotenství nebo později k rozvoji T2DM.

Lokální produkci fetuinu A jsme zaznamenali pouze v placentě, fetuinu B v perineální a podkožní tkáni. Ani v jednom případě však GDM neměl na intenzitu exprese vliv. Tuková tkáň nejspíše neovlivňuje patogenezi GDM cestou změny exprese fetuinů A a B.

V naší studii jsme pozorovali zvýšenou sérovou koncentraci hlavního vazebního proteinu IGFBP-3 u těhotných s GDM, avšak výsledný poměr IGF-1/ IGFBP-3 změněn nebyl, což naznačuje, že na systémové úrovni se aktivita systému IGF / IGFBP u pacientek s GDM neliší oproti zdravým těhotným. Naproti tomu v tukové tkáni jsme pozorovali změnu aktivity, což může zčásti vysvětlovat zvýšenou periferní inzulinovou rezistenci u těhotných s GDM.

Studiu mechanismů podílejících se na rozvoji GDM je věnována velká pozornost. Tuková tkáň jakožto metabolicky aktivní orgán může významným způsobem regulovat periferní inzulinovou rezistenci změnou sekrečního profilu adipokinů nebo ovlivněním aktivity systému IGF/IGFBP. Značná část metabolických změn přitom může probíhat na lokální úrovni a nemusí být detekovatelná v systémové cirkulaci.

7. LITERATURA

- [1] Metzger BE, Coustan DR. Summary and recommendations of the Fourth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. The Organizing Committee. Diabetes care. United States; 1998. p. B161-7.
- [2] ADA. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes. Diabetes Care [Internet]. 2017;40:S11 LP-S24. Available from: http://care.diabetesjournals.org/content/40/Supplement_1/S11.abstract.
- [3] Hollander MH, Paarlberg KM, Huisjes AJM. Gestational diabetes: a review of the current literature and guidelines. Obstetrical & gynecological survey. 2007;62:125–136.
- [4] Šimják P, Anderlová K, Krejčí H, et al. Pitfalls in screening for gestational diabetes in the Czech Republic - patient survey. Ceska gynekologie. 2018;83:348–353.
- [5] Metzger BE, Lowe LP, Dyer AR, et al. Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. The New England journal of medicine. 2008;358:1991–2002.
- [6] Hod M, Merlob P, Friedman S, et al. Gestational diabetes mellitus. A survey of perinatal complications in the 1980s. Diabetes. 1991;40 Suppl 2:74–78.
- [7] Šimják P, Cinkajzlová A, Anderlová K, et al. The role of late third trimester ultrasound in the detection of fetal macrosomia in patients with gestational diabetes. Ultrasound in Obstetrics & Gynecology [Internet]. 2018;52:149–150. Available from: <https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/uog.19649>.
- [8] Lehnen H, Zechner U, Haaf T. Epigenetics of gestational diabetes mellitus and offspring health: the time for action is in early stages of life. Molecular human reproduction. 2013;19:415–422.
- [9] Desai M, Beall M, Ross MG. Developmental origins of obesity: programmed adipogenesis. Current diabetes reports. 2013;13:27–33.
- [10] Nahum Sacks K, Friger M, Shoham-Vardi I, et al. Prenatal exposure to gestational diabetes mellitus as an independent risk factor for long-term neuropsychiatric morbidity of the offspring. American journal of obstetrics and gynecology. 2016;215:380.e1-7.

- [11] Clausen TD, Mathiesen ER, Hansen T, et al. Overweight and the metabolic syndrome in adult offspring of women with diet-treated gestational diabetes mellitus or type 1 diabetes. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2009;94:2464–2470.
- [12] Wu CS, Nohr EA, Bech BH, et al. Long-term health outcomes in children born to mothers with diabetes: a population-based cohort study. *PloS one*. 2012;7:e36727.
- [13] Bellamy L, Casas J-P, Hingorani AD, et al. Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet (London, England)*. 2009;373:1773–1779.
- [14] Sullivan SD, Umans JG, Ratner R. Gestational diabetes: implications for cardiovascular health. *Current diabetes reports*. 2012;12:43–52.
- [15] Zhang C, Rawal S, Chong YS. Risk factors for gestational diabetes: is prevention possible? *Diabetologia*. 2016;59:1385–1390.
- [16] Simjak P, Cinkajzlova A, Anderlova K, et al. The role of obesity and adipose tissue dysfunction in gestational diabetes mellitus. *The Journal of endocrinology*. 2018;238:R63–R77.
- [17] Lain KY, Catalano PM. Metabolic changes in pregnancy. *Clinical obstetrics and gynecology*. 2007;50:938–948.
- [18] Catalano PM, Tyzbir ED, Roman NM, et al. Longitudinal changes in insulin release and insulin resistance in nonobese pregnant women. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1991;165:1667–1672.
- [19] Butte NF. Carbohydrate and lipid metabolism in pregnancy: normal compared with gestational diabetes mellitus. *The American journal of clinical nutrition*. 2000;71:1256S-61S.
- [20] Lebovitz HE. Insulin resistance: definition and consequences. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*. 2001;109 Suppl:S135-48.
- [21] Ryan EA, Enns L. Role of gestational hormones in the induction of insulin resistance. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1988;67:341–347.
- [22] Kirwan JP, Hauguel-De Mouzon S, Lepercq J, et al. TNF-alpha is a predictor of insulin

- resistance in human pregnancy. *Diabetes*. 2002;51:2207–2213.
- [23] Phelps RL, Metzger BE, Freinkel N. Carbohydrate metabolism in pregnancy. XVII. Diurnal profiles of plasma glucose, insulin, free fatty acids, triglycerides, cholesterol, and individual amino acids in late normal pregnancy. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1981;140:730–736.
- [24] Plows JF, Stanley JL, Baker PN, et al. The Pathophysiology of Gestational Diabetes Mellitus. *International journal of molecular sciences*. 2018;19.
- [25] Catalano PM, Bernstein IM, Wolfe RR, et al. Subclinical abnormalities of glucose metabolism in subjects with previous gestational diabetes. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1986;155:1255–1262.
- [26] Homko C, Sivan E, Chen X, et al. Insulin secretion during and after pregnancy in patients with gestational diabetes mellitus. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2001;86:568–573.
- [27] Buchanan TA. Pancreatic B-cell defects in gestational diabetes: implications for the pathogenesis and prevention of type 2 diabetes. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2001;86:989–993.
- [28] Kanagalingam MG, Forouhi NG, Greer IA, et al. Changes in booking body mass index over a decade: retrospective analysis from a Glasgow Maternity Hospital. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*. 2005;112:1431–1433.
- [29] Heslehurst N, Ells LJ, Simpson H, et al. Trends in maternal obesity incidence rates, demographic predictors, and health inequalities in 36,821 women over a 15-year period. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*. 2007;114:187–194.
- [30] Li N, Liu E, Guo J, et al. Maternal prepregnancy body mass index and gestational weight gain on pregnancy outcomes. *PloS one*. 2013;8:e82310.
- [31] Liu L, Hong Z, Zhang L. Associations of prepregnancy body mass index and gestational weight gain with pregnancy outcomes in nulliparous women delivering single live babies. *Scientific reports*. 2015;5:12863.
- [32] Gaudet L, Ferraro ZM, Wen SW, et al. Maternal obesity and occurrence of fetal

- macrosomia: a systematic review and meta-analysis. *BioMed research international*. 2014;2014:640291.
- [33] Stothard KJ, Tennant PWG, Bell R, et al. Maternal overweight and obesity and the risk of congenital anomalies: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2009;301:636–650.
- [34] Drake AJ, Reynolds RM. Impact of maternal obesity on offspring obesity and cardiometabolic disease risk. *Reproduction (Cambridge, England)*. 2010;140:387–398.
- [35] Whitaker RC. Predicting preschooler obesity at birth: the role of maternal obesity in early pregnancy. *Pediatrics*. 2004;114:e29-36.
- [36] Lavie CJ, Milani R V, Ventura HO. Obesity and cardiovascular disease: risk factor, paradox, and impact of weight loss. *Journal of the American College of Cardiology*. 2009;53:1925–1932.
- [37] Pi-Sunyer X. The medical risks of obesity. *Postgraduate medicine*. 2009;121:21–33.
- [38] Berggren EK, Stuebe AM, Boggess KA. Excess Maternal Weight Gain and Large for Gestational Age Risk among Women with Gestational Diabetes. *American journal of perinatology*. 2015;32:251–256.
- [39] Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2004;89:2548–2556.
- [40] Coelho M, Oliveira T, Fernandes R. Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. *Archives of medical science : AMS*. 2013;9:191–200.
- [41] Fonseca-Alaniz MH, Takada J, Alonso-Vale MIC, et al. Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. *Jornal de pediatria*. 2007;83:S192-203.
- [42] Saely CH, Geiger K, Drexel H. Brown versus white adipose tissue: a mini-review. *Gerontology*. 2012;58:15–23.
- [43] Wehrli NE, Bural G, Houseni M, et al. Determination of age-related changes in structure and function of skin, adipose tissue, and skeletal muscle with computed tomography, magnetic resonance imaging, and positron emission tomography. *Seminars in nuclear medicine*. 2007;37:195–205.
- [44] Trayhurn P. Endocrine and signalling role of adipose tissue: new perspectives on fat.

Acta physiologica Scandinavica. 2005;184:285–293.

- [45] Gray SL, Vidal-Puig AJ. Adipose tissue expandability in the maintenance of metabolic homeostasis. *Nutrition reviews*. 2007;65:S7-12.
- [46] Jo J, Gavrilova O, Pack S, et al. Hypertrophy and/or Hyperplasia: Dynamics of Adipose Tissue Growth. *PLoS computational biology*. 2009;5:e1000324.
- [47] Jernas M, Palming J, Sjöholm K, et al. Separation of human adipocytes by size: hypertrophic fat cells display distinct gene expression. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2006;20:1540–1542.
- [48] Fruhbeck G, Catalan V, Rodriguez A, et al. Adiponectin-leptin ratio: A promising index to estimate adipose tissue dysfunction. Relation with obesity-associated cardiometabolic risk. *Adipocyte*. 2018;7:57–62.
- [49] Halberg N, Wernstedt-Asterholm I, Scherer PE. The adipocyte as an endocrine cell. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*. 2008;37:753–768, x–xi.
- [50] Cinti S, Mitchell G, Barbatelli G, et al. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *Journal of lipid research*. 2005;46:2347–2355.
- [51] Nishimura S, Manabe I, Nagai R. Adipose tissue inflammation in obesity and metabolic syndrome. *Discovery medicine*. 2009;8:55–60.
- [52] Unger RH. Minireview: weapons of lean body mass destruction: the role of ectopic lipids in the metabolic syndrome. *Endocrinology*. 2003;144:5159–5165.
- [53] Boren J, Taskinen M-R, Olofsson S-O, et al. Ectopic lipid storage and insulin resistance: a harmful relationship. *Journal of internal medicine*. 2013;274:25–40.
- [54] Bluher M. Adipose tissue inflammation: a cause or consequence of obesity-related insulin resistance? *Clinical science (London, England : 1979)*. 2016;130:1603–1614.
- [55] Kwon H, Pessin JE. Adipokines mediate inflammation and insulin resistance. *Frontiers in endocrinology*. 2013;4:71.
- [56] Al-Badri MR, Zantout MS, Azar ST. The role of adipokines in gestational diabetes mellitus. *Therapeutic advances in endocrinology and metabolism*. 2015;6:103–108.

- [57] Wang Z V, Scherer PE. Adiponectin, the past two decades. *Journal of molecular cell biology*. 2016;8:93–100.
- [58] Yamauchi T, Iwabu M, Okada-Iwabu M, et al. Adiponectin receptors: a review of their structure, function and how they work. *Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism*. 2014;28:15–23.
- [59] Wolf AM, Wolf D, Rumpold H, et al. Adiponectin induces the anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-1RA in human leukocytes. *Biochemical and biophysical research communications*. 2004;323:630–635.
- [60] Ouchi N, Kihara S, Arita Y, et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation*. 1999;100:2473–2476.
- [61] Ajuwon KM, Spurlock ME. Adiponectin inhibits LPS-induced NF-kappaB activation and IL-6 production and increases PPARgamma2 expression in adipocytes. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2005;288:R1220-5.
- [62] McDonald EA, Wolfe MW. Adiponectin attenuation of endocrine function within human term trophoblast cells. *Endocrinology*. 2009;150:4358–4365.
- [63] Lappas M, Permezel M, Rice GE. Leptin and adiponectin stimulate the release of proinflammatory cytokines and prostaglandins from human placenta and maternal adipose tissue via nuclear factor-kappaB, peroxisomal proliferator-activated receptor-gamma and extracellularly regulated kinase . *Endocrinology*. 2005;146:3334–3342.
- [64] Haluzik M. Adiponectin and its potential in the treatment of obesity, diabetes and insulin resistance. *Current opinion in investigational drugs (London, England : 2000)*. 2005;6:988–993.
- [65] Liu C, Feng X, Li Q, et al. Adiponectin, TNF-alpha and inflammatory cytokines and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Cytokine*. 2016;86:100–109.
- [66] Winzer C, Wagner O, Festa A, et al. Plasma adiponectin, insulin sensitivity, and subclinical inflammation in women with prior gestational diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2004;27:1721–1727.

- [67] Lekva T, Michelsen AE, Aukrust P, et al. Leptin and adiponectin as predictors of cardiovascular risk after gestational diabetes mellitus. *Cardiovascular diabetology*. 2017;16:5.
- [68] Kleiblova P, Dostalova I, Bartlova M, et al. Expression of adipokines and estrogen receptors in adipose tissue and placenta of patients with gestational diabetes mellitus. *Molecular and cellular endocrinology*. 2010;314:150–156.
- [69] Chen J, Tan B, Karteris E, et al. Secretion of adiponectin by human placenta: differential modulation of adiponectin and its receptors by cytokines. *Diabetologia*. 2006;49:1292–1302.
- [70] Haghiac M, Basu S, Presley L, et al. Patterns of adiponectin expression in term pregnancy: impact of obesity. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2014;99:3427–3434.
- [71] Mazaki-Tovi S, Kanety H, Pariente C, et al. Maternal serum adiponectin levels during human pregnancy. *Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association*. 2007;27:77–81.
- [72] Ranheim T, Haugen F, Staff AC, et al. Adiponectin is reduced in gestational diabetes mellitus in normal weight women. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*. 2004;83:341–347.
- [73] Ramirez VI, Miller E, Meireles CL, et al. Adiponectin and IGFBP-1 in the development of gestational diabetes in obese mothers. *BMJ open diabetes research & care*. 2014;2:e000010.
- [74] Iliodromiti S, Sassarini J, Kelsey TW, et al. Accuracy of circulating adiponectin for predicting gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Diabetologia*. 2016;59:692–699.
- [75] Bao W, Baecker A, Song Y, et al. Adipokine levels during the first or early second trimester of pregnancy and subsequent risk of gestational diabetes mellitus: A systematic review. *Metabolism: clinical and experimental*. 2015;64:756–764.
- [76] Lekva T, Roland MCP, Michelsen AE, et al. Large Reduction in Adiponectin During Pregnancy Is Associated With Large-for-Gestational-Age Newborns. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2017;102:2552–2559.

- [77] Nanda S, Akolekar R, Sarquis R, et al. Maternal serum adiponectin at 11 to 13 weeks of gestation in the prediction of macrosomia. *Prenatal diagnosis*. 2011;31:479–483.
- [78] Mrizak I, Grissa O, Henault B, et al. Placental infiltration of inflammatory markers in gestational diabetic women. *General physiology and biophysics*. 2014;33:169–176.
- [79] Aye ILMH, Rosario FJ, Powell TL, et al. Adiponectin supplementation in pregnant mice prevents the adverse effects of maternal obesity on placental function and fetal growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2015;112:12858–12863.
- [80] Margetic S, Gazzola C, Pegg GG, et al. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2002;26:1407–1433.
- [81] Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, et al. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science (New York, N.Y.)*. 1995;269:543–546.
- [82] Gruen ML, Hao M, Piston DW, et al. Leptin requires canonical migratory signaling pathways for induction of monocyte and macrophage chemotaxis. *American journal of physiology. Cell physiology*. 2007;293:C1481-8.
- [83] Claycombe K, King LE, Fraker PJ. A role for leptin in sustaining lymphopoiesis and myelopoiesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008;105:2017–2021.
- [84] Haluzik M, Fiedler J, Nedvidkova J, et al. Serum leptin concentrations in patients with combined hyperlipidemia: relationship to serum lipids and lipoproteins. *Physiological research*. 1999;48:363–368.
- [85] Myers MGJ, Leibel RL, Seeley RJ, et al. Obesity and leptin resistance: distinguishing cause from effect. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 2010;21:643–651.
- [86] Fischer S, Hanefeld M, Haffner SM, et al. Insulin-resistant patients with type 2 diabetes mellitus have higher serum leptin levels independently of body fat mass. *Acta diabetologica*. 2002;39:105–110.
- [87] Krizova J, Eretova V, Haluzikova D, et al. Soluble leptin receptor and leptin levels in pregnant women before and after delivery. *Endocrine research*. 2004;30:379–385.

- [88] Tsai P-JS, Davis J, Bryant-Greenwood G. Systemic and placental leptin and its receptors in pregnancies associated with obesity. *Reproductive sciences* (Thousand Oaks, Calif.). 2015;22:189–197.
- [89] Kautzky-Willer A, Pacini G, Tura A, et al. Increased plasma leptin in gestational diabetes. *Diabetologia*. 2001;44:164–172.
- [90] Lappas M, Yee K, Permezel M, et al. Release and regulation of leptin, resistin and adiponectin from human placenta, fetal membranes, and maternal adipose tissue and skeletal muscle from normal and gestational diabetes mellitus-complicated pregnancies. *The Journal of endocrinology*. 2005;186:457–465.
- [91] Qiu C, Williams MA, Vadachkoria S, et al. Increased maternal plasma leptin in early pregnancy and risk of gestational diabetes mellitus. *Obstetrics and gynecology*. 2004;103:519–525.
- [92] Allard C, Desgagne V, Patenaude J, et al. Mendelian randomization supports causality between maternal hyperglycemia and epigenetic regulation of leptin gene in newborns. *Epigenetics*. 2015;10:342–351.
- [93] Goralski KB, McCarthy TC, Hanniman EA, et al. Chemerin, a novel adipokine that regulates adipogenesis and adipocyte metabolism. *The Journal of biological chemistry*. 2007;282:28175–28188.
- [94] Alfadda AA, Sallam RM, Chishti MA, et al. Differential patterns of serum concentration and adipose tissue expression of chemerin in obesity: adipose depot specificity and gender dimorphism. *Molecules and cells*. 2012;33:591–596.
- [95] Tsiotra PC, Halvatsiotis P, Patsouras K, et al. Circulating adipokines and mRNA expression in adipose tissue and the placenta in women with gestational diabetes mellitus. *Peptides*. 2018;101:157–166.
- [96] El-Mesallamy HO, El-Derany MO, Hamdy NM. Serum omentin-1 and chemerin levels are interrelated in patients with Type 2 diabetes mellitus with or without ischaemic heart disease. *Diabetic medicine: a journal of the British Diabetic Association*. 2011;28:1194–1200.
- [97] Fatima SS, Alam F, Chaudhry B, et al. Elevated levels of chemerin,

- leptin, and interleukin-18 in gestational diabetes mellitus. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians.* 2017;30:1023–1028.
- [98] Li X-M, Ji H, Li C-J, et al. Chemerin expression in Chinese pregnant women with and without gestational diabetes mellitus. *Annales d'endocrinologie.* 2015;76:19–24.
- [99] van Poppel MNM, Zeck W, Ulrich D, et al. Cord blood chemerin: differential effects of gestational diabetes mellitus and maternal obesity. *Clinical endocrinology.* 2014;80:65–72.
- [100] Hare KJ, Bonde L, Svare JA, et al. Decreased plasma chemerin levels in women with gestational diabetes mellitus. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association.* 2014;31:936–940.
- [101] Pfau D, Stepan H, Kratzsch J, et al. Circulating levels of the adipokine chemerin in gestational diabetes mellitus. *Hormone research in paediatrics.* 2010;74:56–61.
- [102] Cetin O, Kurdoglu Z, Kurdoglu M, et al. Chemerin level in pregnancies complicated by preeclampsia and its relation with disease severity and neonatal outcomes. *Journal of obstetrics and gynaecology : the journal of the Institute of Obstetrics and Gynaecology.* 2017;37:195–199.
- [103] Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, et al. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science (New York, N.Y.).* 2005;307:426–430.
- [104] Varma V, Yao-Borengasser A, Rasouli N, et al. Human visfatin expression: relationship to insulin sensitivity, intramyocellular lipids, and inflammation. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2007;92:666–672.
- [105] Svoboda P, KriZova E, Cenkova K, et al. Visfatin is actively secreted in vitro from U-937 macrophages, but only passively released from 3T3-L1 adipocytes and HepG2 hepatocytes. *Physiological research.* 2017;66:709–714.
- [106] Garten A, Petzold S, Barnikol-Oettler A, et al. Nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT/PBEF/visfatin) is constitutively released from human hepatocytes. *Biochemical and biophysical research communications.* 2010;391:376–381.

- [107] Costford SR, Bajpeyi S, Pasarica M, et al. Skeletal muscle NAMPT is induced by exercise in humans. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*. 2010;298:E117-26.
- [108] Telejko B, Kuzmicki M, Zonenberg A, et al. Visfatin in gestational diabetes: serum level and mRNA expression in fat and placental tissue. *Diabetes research and clinical practice*. 2009;84:68–75.
- [109] Moschen AR, Kaser A, Enrich B, et al. Visfatin, an adipocytokine with proinflammatory and immunomodulating properties. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 2007;178:1748–1758.
- [110] Skop V, Kontrova K, Zidek V, et al. Autocrine effects of visfatin on hepatocyte sensitivity to insulin action. *Physiological research*. 2010;59:615–618.
- [111] Chang Y-H, Chang D-M, Lin K-C, et al. Visfatin in overweight/obesity, type 2 diabetes mellitus, insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular diseases: a meta-analysis and systemic review. *Diabetes/metabolism research and reviews*. 2011;27:515–527.
- [112] Krzyzanowska K, Krugluger W, Mittermayer F, et al. Increased visfatin concentrations in women with gestational diabetes mellitus. *Clinical science (London, England : 1979)*. 2006;110:605–609.
- [113] Lewandowski KC, Stojanovic N, Press M, et al. Elevated serum levels of visfatin in gestational diabetes: a comparative study across various degrees of glucose tolerance. *Diabetologia*. 2007;50:1033–1037.
- [114] Haider DG, Handisurya A, Storka A, et al. Visfatin response to glucose is reduced in women with gestational diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2007;30:1889–1891.
- [115] Chan T-F, Chen Y-L, Lee C-H, et al. Decreased plasma visfatin concentrations in women with gestational diabetes mellitus. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*. 2006;13:364–367.
- [116] Shoba B, Lwin ZM, Ling LS, et al. Function of sirtuins in biological tissues. *Anatomical record (Hoboken, N.J. : 2007)*. 2009;292:536–543.
- [117] Chung S, Yao H, Caito S, et al. Regulation of SIRT1 in cellular functions: role of

- polyphenols. *Archives of biochemistry and biophysics*. 2010;501:79–90.
- [118] Tsai P-JS, Davis J, Thompson K, et al. Visfatin/Nampt and SIRT1: Roles in Postterm Delivery in Pregnancies Associated With Obesity. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)*. 2015;22:1028–1036.
- [119] Mumtaz S, AlSaif S, Wray S, et al. Inhibitory effect of visfatin and leptin on human and rat myometrial contractility. *Life sciences*. 2015;125:57–62.
- [120] de Souza Batista CM, Yang R-Z, Lee M-J, et al. Omentin plasma levels and gene expression are decreased in obesity. *Diabetes*. 2007;56:1655–1661.
- [121] Komiya T, Tanigawa Y, Hirohashi S. Cloning of the novel gene intelectin, which is expressed in intestinal paneth cells in mice. *Biochemical and biophysical research communications*. 1998;251:759–762.
- [122] Yang R-Z, Lee M-J, Hu H, et al. Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*. 2006;290:E1253-61.
- [123] Das SK, Elbein SC. The Genetic Basis of Type 2 Diabetes. *Cellscience*. 2006;2:100–131.
- [124] Pan H-Y, Guo L, Li Q. Changes of serum omentin-1 levels in normal subjects and in patients with impaired glucose regulation and with newly diagnosed and untreated type 2 diabetes. *Diabetes research and clinical practice*. 2010;88:29–33.
- [125] Barker G, Lim R, Georgiou HM, et al. Omentin-1 is decreased in maternal plasma, placenta and adipose tissue of women with pre-existing obesity. *PloS one*. 2012;7:e42943.
- [126] Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*. 2001;409:307–312.
- [127] Park HK, Ahima RS. Resistin in rodents and humans. *Diabetes & metabolism journal*. 2013;37:404–414.
- [128] Yura S, Sagawa N, Itoh H, et al. Resistin is expressed in the human placenta. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2003;88:1394–1397.
- [129] Hsu W-Y, Chao Y-W, Tsai Y-L, et al. Resistin induces monocyte-endothelial cell

- adhesion by increasing ICAM-1 and VCAM-1 expression in endothelial cells via p38MAPK-dependent pathway. *Journal of cellular physiology*. 2011;226:2181–2188.
- [130] Manduteanu I, Pirvulescu M, Gan AM, et al. Similar effects of resistin and high glucose on P-selectin and fractalkine expression and monocyte adhesion in human endothelial cells. *Biochemical and biophysical research communications*. 2010;391:1443–1448.
- [131] Silswal N, Singh AK, Aruna B, et al. Human resistin stimulates the pro-inflammatory cytokines TNF-alpha and IL-12 in macrophages by NF-kappaB-dependent pathway. *Biochemical and biophysical research communications*. 2005;334:1092–1101.
- [132] Vozarova de Courten B, Degawa-Yamauchi M, Considine R V, et al. High serum resistin is associated with an increase in adiposity but not a worsening of insulin resistance in Pima Indians. *Diabetes*. 2004;53:1279–1284.
- [133] Piestrzeniewicz K, Luczak K, Komorowski J, et al. Resistin increases with obesity and atherosclerotic risk factors in patients with myocardial infarction. *Metabolism: clinical and experimental*. 2008;57:488–493.
- [134] Chen D, Fang Q, Chai Y, et al. Serum resistin in gestational diabetes mellitus and early postpartum. *Clinical endocrinology*. 2007;67:208–211.
- [135] Kuzmicki M, Telejko B, Szamatowicz J, et al. High resistin and interleukin-6 levels are associated with gestational diabetes mellitus. *Gynecological endocrinology: the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*. 2009;25:258–263.
- [136] Megia A, Vendrell J, Gutierrez C, et al. Insulin sensitivity and resistin levels in gestational diabetes mellitus and after parturition. *European journal of endocrinology*. 2008;158:173–178.
- [137] Hendler I, Blackwell SC, Mehta SH, et al. The levels of leptin, adiponectin, and resistin in normal weight, overweight, and obese pregnant women with and without preeclampsia. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2005;193:979–983.
- [138] Ng PC, Lee CH, Lam CWK, et al. Plasma ghrelin and resistin concentrations are suppressed in infants of insulin-dependent diabetic mothers. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2004;89:5563–5568.

- [139] Feng R, Li Y, Wang C, et al. Higher vaspin levels in subjects with obesity and type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis. *Diabetes research and clinical practice*. 2014;106:88–94.
- [140] Li Q, Chen R, Moriya J, et al. A novel adipocytokine, visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor (vaspin), and obesity. *The Journal of international medical research*. 2008;36:625–629.
- [141] Handisurya A, Riedl M, Vila G, et al. Serum vaspin concentrations in relation to insulin sensitivity following RYGB-induced weight loss. *Obesity surgery*. 2010;20:198–203.
- [142] Gkiomisi A, Makedou KG, Anastasilakis AD, et al. Serum vaspin levels in women with and without gestational diabetes mellitus during pregnancy and postpartum. *Cytokine*. 2013;61:127–132.
- [143] Huo Y, Liu SX, Song GY, et al. Plasma levels and placental expression of vaspin in pregnant women with diabetes mellitus. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas*. 2015;48:273–279.
- [144] Jia X, Wang S, Ma N, et al. Comparative analysis of vaspin in pregnant women with and without gestational diabetes mellitus and healthy non-pregnant women. *Endocrine*. 2015;48:533–540.
- [145] Mm WQ, Fan J, Khor S, et al. Serum vaspin levels and vaspin mRNA expression in subcutaneous adipose tissue in women with gestational diabetes mellitus. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2014;182:98–101.
- [146] Jialal I, Devaraj S, Bettaieb A, et al. Increased adipose tissue secretion of Fetuin-A, lipopolysaccharide-binding protein and high-mobility group box protein 1 in metabolic syndrome. *Atherosclerosis*. 2015;241:130–137.
- [147] Srinivas PR, Wagner AS, Reddy L V, et al. Serum alpha 2-HS-glycoprotein is an inhibitor of the human insulin receptor at the tyrosine kinase level. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)*. 1993;7:1445–1455.
- [148] Pal D, Dasgupta S, Kundu R, et al. Fetuin-A acts as an endogenous ligand of TLR4 to promote lipid-induced insulin resistance. *Nature medicine*. 2012;18:1279–1285.

- [149] Chatterjee P, Seal S, Mukherjee S, et al. Adipocyte fetuin-A contributes to macrophage migration into adipose tissue and polarization of macrophages. *The Journal of biological chemistry*. 2013;288:28324–28330.
- [150] Hennige AM, Staiger H, Wicke C, et al. Fetuin-A induces cytokine expression and suppresses adiponectin production. *PloS one*. 2008;3:e1765.
- [151] Stefan N, Hennige AM, Staiger H, et al. Alpha2-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin-A is associated with insulin resistance and fat accumulation in the liver in humans. *Diabetes care*. 2006;29:853–857.
- [152] Stefan N, Fritsche A, Weikert C, et al. Plasma fetuin-A levels and the risk of type 2 diabetes. *Diabetes*. 2008;57:2762–2767.
- [153] Ix JH, Shlipak MG, Brandenburg VM, et al. Association between human fetuin-A and the metabolic syndrome: data from the Heart and Soul Study. *Circulation*. 2006;113:1760–1767.
- [154] Iyidir OT, Degertekin CK, Yilmaz BA, et al. Serum levels of fetuin A are increased in women with gestational diabetes mellitus. *Archives of gynecology and obstetrics*. 2015;291:933–937.
- [155] Kalabay L, Cseh K, Pajor A, et al. Correlation of maternal serum fetuin/alpha2-HS-glycoprotein concentration with maternal insulin resistance and anthropometric parameters of neonates in normal pregnancy and gestational diabetes. *European journal of endocrinology*. 2002;147:243–248.
- [156] Meex RC, Hoy AJ, Morris A, et al. Fetuin B Is a Secreted Hepatocyte Factor Linking Steatosis to Impaired Glucose Metabolism. *Cell metabolism*. 2015;22:1078–1089.
- [157] Kralisch S, Hoffmann A, Lossner U, et al. Regulation of the novel adipokines/hepatokines fetuin A and fetuin B in gestational diabetes mellitus. *Metabolism: clinical and experimental*. 2017;68:88–94.
- [158] Dostalova I, Haluzikova D, Haluzik M. Fibroblast growth factor 21: a novel metabolic regulator with potential therapeutic properties in obesity/type 2 diabetes mellitus. *Physiological research*. 2009;58:1–7.
- [159] Fon Tacer K, Bookout AL, Ding X, et al. Research resource: Comprehensive

- expression atlas of the fibroblast growth factor system in adult mouse. *Molecular endocrinology* (Baltimore, Md.). 2010;24:2050–2064.
- [160] Inagaki T, Dutchak P, Zhao G, et al. Endocrine regulation of the fasting response by PPAR α -mediated induction of fibroblast growth factor 21. *Cell metabolism*. 2007;5:415–425.
- [161] Ogawa Y, Kurosu H, Yamamoto M, et al. BetaKlotho is required for metabolic activity of fibroblast growth factor 21. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007;104:7432–7437.
- [162] Ito S, Kinoshita S, Shiraishi N, et al. Molecular cloning and expression analyses of mouse betaklotho, which encodes a novel Klotho family protein. *Mechanisms of development*. 2000;98:115–119.
- [163] Kharitonov A, Shiyanova TL, Koester A, et al. FGF-21 as a novel metabolic regulator. *The Journal of clinical investigation*. 2005;115:1627–1635.
- [164] Wente W, Efanov AM, Brenner M, et al. Fibroblast growth factor-21 improves pancreatic beta-cell function and survival by activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 and Akt signaling pathways. *Diabetes*. 2006;55:2470–2478.
- [165] Haluzikova D, Lacinova Z, Kavalkova P, et al. Laparoscopic sleeve gastrectomy differentially affects serum concentrations of FGF-19 and FGF-21 in morbidly obese subjects. *Obesity* (Silver Spring, Md.). 2013;21:1335–1342.
- [166] Daughaday WH, Rotwein P. Insulin-like growth factors I and II. Peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum, and tissue concentrations. *Endocrine reviews*. 1989;10:68–91.
- [167] Han VK, D'Ercole AJ, Lund PK. Cellular localization of somatomedin (insulin-like growth factor) messenger RNA in the human fetus. *Science* (New York, N.Y.). 1987;236:193–197.
- [168] Di Bona D, Accardi G, VIRRUSO C, et al. Association between genetic variations in the insulin/insulin-like growth factor (Igf-1) signaling pathway and longevity: a systematic review and meta-analysis. *Current vascular pharmacology*. 2014;12:674–681.
- [169] Boulware SD, Tamborlane W V, Matthews LS, et al. Diverse effects of insulin-like

- growth factor I on glucose, lipid, and amino acid metabolism. *The American journal of physiology*. 1992;262:E130-3.
- [170] Baker J, Liu JP, Robertson EJ, et al. Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth. *Cell*. 1993;75:73–82.
- [171] Frysak Z, Schovanek J, Iacobone M, et al. Insulin-like Growth Factors in a clinical setting: Review of IGF-I. *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia*. 2015;159:347–351.
- [172] Wabitsch M, Hauner H, Heinze E, et al. The role of growth hormone/insulin-like growth factors in adipocyte differentiation. *Metabolism: clinical and experimental*. 1995;44:45–49.
- [173] Mauras N, Haymond MW. Are the metabolic effects of GH and IGF-I separable? *Growth hormone & IGF research : official journal of the Growth Hormone Research Society and the International IGF Research Society*. 2005;15:19–27.
- [174] Moses AC, Young SC, Morrow LA, et al. Recombinant human insulin-like growth factor I increases insulin sensitivity and improves glycemic control in type II diabetes. *Diabetes*. 1996;45:91–100.
- [175] Adams TE, Epa VC, Garrett TP, et al. Structure and function of the type 1 insulin-like growth factor receptor. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. 2000;57:1050–1093.
- [176] MacDonald RG, Pfeffer SR, Coussens L, et al. A single receptor binds both insulin-like growth factor II and mannose-6-phosphate. *Science (New York, N.Y.)*. 1988;239:1134–1137.
- [177] Kelley KM, Oh Y, Gargosky SE, et al. Insulin-like growth factor-binding proteins (IGFBPs) and their regulatory dynamics. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 1996;28:619–637.
- [178] Laursen LS, Kjaer-Sorensen K, Andersen MH, et al. Regulation of insulin-like growth factor (IGF) bioactivity by sequential proteolytic cleavage of IGF binding protein-4 and -5. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)*. 2007;21:1246–1257.
- [179] Rajah R, Katz L, Nunn S, et al. Insulin-like growth factor binding protein (IGFBP)

- proteases: functional regulators of cell growth. *Progress in growth factor research*. 1995;6:273–284.
- [180] Succurro E, Andreozzi F, Marini MA, et al. Low plasma insulin-like growth factor-1 levels are associated with reduced insulin sensitivity and increased insulin secretion in nondiabetic subjects. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*. 2009;19:713–719.
- [181] Sandhu MS, Heald AH, Gibson JM, et al. Circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and development of glucose intolerance: a prospective observational study. *Lancet (London, England)*. 2002;359:1740–1745.
- [182] van Bunderen CC, van Nieuwpoort IC, van Schoor NM, et al. The association of serum insulin-like growth factor-I with mortality, cardiovascular disease, and cancer in the elderly: a population-based study. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2010;95:4616–4624.
- [183] Woods KA, Camacho-Hubner C, Bergman RN, et al. Effects of insulin-like growth factor I (IGF-I) therapy on body composition and insulin resistance in IGF-I gene deletion. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2000;85:1407–1411.
- [184] Qiu C, Vadachkoria S, Meryman L, et al. Maternal plasma concentrations of IGF-1, IGFBP-1, and C-peptide in early pregnancy and subsequent risk of gestational diabetes mellitus. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2005;193:1691–1697.
- [185] Rojas-Rodriguez R, Lifshitz LM, Bellve KD, et al. Human adipose tissue expansion in pregnancy is impaired in gestational diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2015;58:2106–2114.
- [186] Lappas M. Insulin-like growth factor-binding protein 1 and 7 concentrations are lower in obese pregnant women, women with gestational diabetes and their fetuses. *Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association*. 2015;35:32–38.
- [187] Kanai Y, Kamoda T, Saito M, et al. Cord blood insulin-like growth factor (IGF)-1, IGF-binding proteins and adiponectin, and birth size in offspring of women with mild gestational diabetes. *Early human development*. 2016;93:39–42.
- [188] Lappas M, Jinks D, Shub A, et al. Postpartum IGF-I and IGFBP-2 levels are

- prospectively associated with the development of type 2 diabetes in women with previous gestational diabetes mellitus. *Diabetes & metabolism*. 2016;42:442–447.
- [189] Fitzsimons KJ, Modder J, Greer IA. Obesity in pregnancy: risks and management. *Obstetric medicine*. 2009;2:52–62.
- [190] Stubert J, Reister F, Hartmann S, et al. The Risks Associated With Obesity in Pregnancy. *Deutsches Arzteblatt international*. 2018;115:276–283.
- [191] Ramos-Levi AM, Perez-Ferre N, Fernandez MD, et al. Risk factors for gestational diabetes mellitus in a large population of women living in Spain: implications for preventative strategies. *International journal of endocrinology*. 2012;2012:312529.
- [192] Kim SY, England L, Wilson HG, et al. Percentage of gestational diabetes mellitus attributable to overweight and obesity. *American journal of public health*. 2010;100:1047–1052.
- [193] Farhan S, Handisurya A, Todoric J, et al. Fetuin-A Characteristics during and after Pregnancy: Result from a Case Control Pilot Study. *International journal of endocrinology*. 2012;2012:896736.
- [194] Ismail NA, Ragab S, El Dayem SMA, et al. Fetuin-A levels in obesity: differences in relation to metabolic syndrome and correlation with clinical and laboratory variables. *Archives of medical science : AMS*. 2012;8:826–833.
- [195] Perez-Sotelo D, Roca-Rivada A, Larrosa-Garcia M, et al. Visceral and subcutaneous adipose tissue express and secrete functional alpha2hsglycoprotein (fetuin a) especially in obesity. *Endocrine*. 2017;55:435–446.
- [196] Molvarec A, Kalabay L, Derzsy Z, et al. Preeclampsia is associated with decreased serum alpha(2)-HS glycoprotein (fetuin-A) concentration. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension*. 2009;32:665–669.
- [197] Dasgupta S, Bhattacharya S, Biswas A, et al. NF-kappaB mediates lipid-induced fetuin-A expression in hepatocytes that impairs adipocyte function effecting insulin resistance. *The Biochemical journal*. 2010;429:451–462.
- [198] Leipold H, Worda C, Gruber CJ, et al. Gestational diabetes mellitus is associated with increased C-reactive protein concentrations in the third but not second trimester.

European journal of clinical investigation. 2005;35:752–757.

- [199] Danielsen I, Granstrom C, Rytter D, et al. Subclinical inflammation during third trimester of pregnancy was not associated with markers of the metabolic syndrome in young adult offspring. *Obesity (Silver Spring, Md.)*. 2014;22:1351–1358.
- [200] Mahmoud F, Abul H, Omu A, et al. Lymphocyte sub-populations in gestational diabetes. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)*. 2005;53:21–29.
- [201] Ingvorsen C, Brix S, Ozanne SE, et al. The effect of maternal Inflammation on foetal programming of metabolic disease. *Acta physiologica (Oxford, England)*. 2015;214:440–449.
- [202] Monteiro LJ, Norman JE, Rice GE, et al. Fetal programming and gestational diabetes mellitus. *Placenta*. 2016;48 Suppl 1:S54–S60.
- [203] Stein S, Stepan H, Kratzsch J, et al. Serum fibroblast growth factor 21 levels in gestational diabetes mellitus in relation to insulin resistance and dyslipidemia. *Metabolism: clinical and experimental*. 2010;59:33–37.
- [204] Megia A, Gil-Lluis P, Naf S, et al. Cord blood FGF21 in gestational diabetes and its relationship with postnatal growth. *Acta diabetologica*. 2015;52:693–700.
- [205] Wang D, Zhu W, Li J, et al. Serum concentrations of fibroblast growth factors 19 and 21 in women with gestational diabetes mellitus: association with insulin resistance, adiponectin, and polycystic ovary syndrome history. *PloS one*. 2013;8:e81190.
- [206] Dekker Nitert M, Barrett HL, Kubala MH, et al. Increased placental expression of fibroblast growth factor 21 in gestational diabetes mellitus. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2014;99:E591-8.
- [207] Cheung BMY, Deng HB. Fibroblast growth factor 21: a promising therapeutic target in obesity-related diseases. *Expert review of cardiovascular therapy*. 2014;12:659–666.
- [208] Clemmons DR. Involvement of insulin-like growth factor-I in the control of glucose homeostasis. *Current opinion in pharmacology*. 2006;6:620–625.
- [209] Wilson DM, Bennett A, Adamson GD, et al. Somatomedins in pregnancy: a cross-sectional study of insulin-like growth factors I and II and somatomedin peptide content

- in normal human pregnancies. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1982;55:858–861.
- [210] Kubota T, Kamada S, Taguchi M, et al. Determination of insulin-like growth factor-2 in fetomaternal circulation during human pregnancy. *Acta endocrinologica*. 1992;127:359–365.
- [211] Zhu Y, Mendola P, Albert PS, et al. Insulin-Like Growth Factor Axis and Gestational Diabetes Mellitus: A Longitudinal Study in a Multiracial Cohort. *Diabetes*. 2016;65:3495–3504.
- [212] Yan-Jun L, Tsushima T, Minei S, et al. Insulin-like growth factors (IGFs) and IGF-binding proteins (IGFBP-1, -2 and -3) in diabetic pregnancy: relationship to macrosomia. *Endocrine journal*. 1996;43:221–231.
- [213] Frystyk J, Skjaerbaek C, Vestbo E, et al. Circulating levels of free insulin-like growth factors in obese subjects: the impact of type 2 diabetes. *Diabetes/metabolism research and reviews*. 1999;15:314–322.
- [214] Rajpathak SN, Gunter MJ, Wylie-Rosett J, et al. The role of insulin-like growth factor-I and its binding proteins in glucose homeostasis and type 2 diabetes. *Diabetes/metabolism research and reviews*. 2009;25:3–12.
- [215] Liao S, Vickers MH, Taylor RS, et al. Maternal serum placental growth hormone, insulin-like growth factors and their binding proteins at 20 weeks' gestation in pregnancies complicated by gestational diabetes mellitus. *Hormones (Athens, Greece)*. 2017;16:282–290.
- [216] Luo J, Murphy LJ. Differential expression of the insulin-like growth factor binding proteins in spontaneously diabetic rats. *Journal of molecular endocrinology*. 1992;8:155–163.
- [217] Han HJ, Kang CW, Park SH. Tissue-specific regulation of insulin-like growth factors and insulin-like growth factor binding proteins in male diabetic rats in vivo and in vitro. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*. 2006;33:1172–1179.
- [218] Pao CI, Farmer PK, Begovic S, et al. Expression of hepatic insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor-binding protein-1 genes is transcriptionally regulated in streptozotocin-diabetic rats. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)*. 1992;6:969–

977.

- [219] Gealekman O, Gurav K, Chouinard M, et al. Control of adipose tissue expandability in response to high fat diet by the insulin-like growth factor-binding protein-4. *The Journal of biological chemistry*. 2014;289:18327–18338.
- [220] Yamada PM, Mehta HH, Hwang D, et al. Evidence of a role for insulin-like growth factor binding protein (IGFBP)-3 in metabolic regulation. *Endocrinology*. 2010;151:5741–5750.
- [221] Touskova V, Trachta P, Kavalkova P, et al. Serum concentrations and tissue expression of components of insulin-like growth factor-axis in females with type 2 diabetes mellitus and obesity: the influence of very-low-calorie diet. *Molecular and cellular endocrinology*. 2012;361:172–178.

8. PŘÍLOHY

8.1. Seznam publikovaných článků a abstrakt

8.1.1. Publikace v časopisech s IF se vztahem k tématu disertace

Anderlová K, Cinkajzlová A, Šimják P, Kloučková J, Kratochvilová H, Lacinová Z, Kaválková P, Krejčí H, Mráz M, Pařízek A, Haluzík M, Kršek M. 2019. “Insulin-like growth factor axis in pregnancy and gestational diabetes.” *Physiological Research* 68 (5): 807-16.

Šimják P, Cinkajzlová A, Anderlová K, Kloučková J, Kratochvilová H, Lacinová Z, Kaválková P, Krejčí H, Mráz M, Pařízek A, Haluzík M, Kršek M. 2018. “Changes in Plasma Concentrations and mRNA Expression of Hepatokines Fetuin A, Fetuin B and FGF21 in Physiological Pregnancy and Gestational Diabetes Mellitus.” *Physiological Research* 67 (Supplementum 3): S531–42.

Šimják P, Cinkajzlová A, Anderlová K, Pařízek A, Mráz M, Kršek M, Haluzík M. 2018. “The Role of Obesity and Adipose Tissue Dysfunction in Gestational Diabetes Mellitus.” *The Journal of Endocrinology* 238 (2): R63–77.

8.1.2. Publikace v časopisech bez IF se vztahem k tématu disertace

Krejčí H, Šimják P, Anderlová K, Benáková H, Pařízek A, Krejčí V, Škrha J. 2019. „Výskyt gestačního diabetes mellitus před a po zavedení HAPO diagnostických kritérií.“ *Česká Gynekologie* 84 (6): 404-11.

Šimják P, Anderlová K, Krejčí H, Krejčí V, Pařízková P, Mráz M, Kršek M, Haluzík M, Pařízek A. 2018. “Pitfalls in Screening for Gestational Diabetes in the Czech Republic - Patient Survey.” *Česká Gynekologie* 83 (5): 348–53.

8.1.3. Abstrakta přednášek/posterů se vztahem k tématu disertace

Šimják P, Cinkajzlová A, Anderlová K, Dostálek L, Haluzík M, Pařízek A, Calda P. The role of late third trimester ultrasound in the detection of fetal macrosomia in patients with gestational diabetes. In *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology – 28th World Congress on Ultrasound in Obstetrics and Gynecology - 20-24 October 2018*, Singapore, 2018.

Cinkajzlová A, Anderlová K, Šimják P, Lacinová Z, Kloučková J, Kratochvilová H, Krejčí H, Pařízek A, Mráz M, Kršek M, Haluzík M. Association of gestational diabetes with low-grade inflammation and lymphocyte populations in subcutaneous and visceral adipose tissue. In *Diabetologia - 54th Annual Meeting of the European-Association-for-the-Study-of-Diabetes (EASD) – 1-5 October 2018*, Berlin, Germany.

Anderlová K, **Šimják P**, Cinkajzlová A, Kloučková J, Kratochvílová H, Lacinová Z, Kaválková P, Krejčí H, Mráz M, Haluzík M, Kršek M. IGFs and IGF-Binding Proteins in Pregnancy and Gestational Diabetes Mellitus. In *Diabetes - 78th Scientific Sessions of the American-Diabetes-Association – 22-26 June 2018*. Orlando, Florida.

Cinkajzlová A, Anderlová K, **Šimják P**, Lacinová Z, Kloučková J, Kratochvílová H, Krejčí H, Mráz M, Haluzík M, Kršek M. Subclinical Inflammation and Lymphocytes in Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue-The Influence of Pregnancy and Gestational Diabetes Mellitus. In *Diabetes - 78th Scientific Sessions of the American-Diabetes-Association – 22-26 June 2018*. Orlando, Florida.

Šimják P, Anderlová K, Cinkajzlová A, Lacinová Z, Kloučková J, Kratochvílová H, Krejčí H, Mráz M, Haluzík M, Kršek M. Adipose tissue lymphocytes in pregnant women with gestational diabetes mellitus. In *Proceedings of the Journal of perinatal medicine - 13th world congress of perinatal medicine – 26-29 October 2017 - Belgrade, Serbia, 2017*.

Cinkajzlová A, Anderlová K, **Šimják P**, Lacinová Z, Kloučková J, Kratochvílová H, Krejčí H, Mráz M, Haluzík M, Kršek M. Lymphocytes in pregnant women with gestational diabetes mellitus. In *Proceedings of the CSAC – International conference of analytical cytometry IX – 14-17 October 2017 – Prague, Czech republic*.

8.1.4. Publikace v časopisech s IF bez vztahu k tématu disertace

Šimják P, Smíšek J, Koucký M, Lamberská T, Plavka R, Hájek Z. 2018. “Proactive Approach at the Limits of Viability Improves the Short-Term Outcome of Neonates Born after 23 Weeks’ Gestation.” *Journal of Perinatal Medicine* 46 (1): 103–11.

Šimják P, Hill M, Pařízek A, Vitek L, Velíková M, Dušková M, Kancheva R, Bulant J, Koucký M, Kokrdová Z, Adamcová K, Černý A, Hájek Z, Stárka L. 2018. “May Circulating Steroids Reveal a Predisposition to Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy in Non-Pregnant Women?” *Physiological Research* 67 (Supplementum 3): S499–510.

Pařízek A, **Šimják P**, Černý A, Šestinová A, Zdeňková A, Hill M, Dušková M, Vlk R, Kokrdová Z, Koucký M, Vitek L. 2016. “Efficacy and Safety of Ursodeoxycholic Acid in Patients with Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy.” *Annals of Hepatology* 15 (5): 757–61.

Pařízek, A, Hill M, Dušková M, Vitek L, Velíková M, Kancheva R, **Šimják P**, Koucký M, Kokrdová Z, Adamcová K, Černý A, Hájek Z, Stárka L. 2016. “A Comprehensive Evaluation of Steroid Metabolism in Women with Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy.” *PloS One* 11 (8): e0159203.

Koucký M, Malíčková K, Cindrova-Davies T, Smíšek J, Vrábliková H, Černý A, **Šimják P**, Slováčková M, Pařízek A, Zima T. 2016. “Prolonged Progesterone Administration Is

Associated with Less Frequent Cervicovaginal Colonization by *Ureaplasma Urealyticum* during Pregnancy - Results of a Pilot Study.” *Journal of Reproductive Immunology* 116 (August): 35–41.

Šimják P, Pařízek A, Vitek L, Černý A, Adamcová K, Koucký M, Hill M, Dušková M, Stárka L. 2015. “Fetal Complications Due to Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy.” *Journal of Perinatal Medicine* 43 (2): 133–39.

Pašková A, Pařízek A, Hill M, Velíkova M, Kubatová J, Dušková M, Adamcová K, Koucký M, **Šimják P**, Černý A, Stárka L. 2014. “Steroid Metabolome in the Umbilical Cord: Is It Necessary to Differentiate between Arterial and Venous Blood?” *Physiological Research* 63 (1): 115–26.

Pařízek A, Dušková M, Vitek L, Šrámková M, Hill M, Adamcová K, **Šimják P**, Černý A, Kokrdová Z, Vráblíková H, Boudová B, Koucký M, Malíčková K, Stárka L. 2015. “The Role of Steroid Hormones in the Development of Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy.” *Physiological Research* 64 Suppl 2: S203-9.

8.1.5. Publikace v časopisech bez IF bez vztahu k tématu disertace

Dudášová J, **Šimják P**, Koucký M, Pařízek A. 2019. „Současné možnosti predikce předčasného porodu“ *Česká Gynekologie* 84 (5): 355-61.

Fartáková Z, **Šimják P**, Vitek L, Adamcová K, Horáková V, Koucký M, Hill M, Dušková M, Pařízek A. 2013. „Intrahepatální těhotenská cholestáza.“ *Česká Gynekologie* 78 (3): 276-80.