

# Karakterizacija metaboličkog i imunosnog profila tijekom trudnoće

---

**Dumančić, Blaž**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2023**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:464502>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-23**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**

**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PRIJEDIPLOMSKI I**

**DIPLOMSKI STUDIJ MEDICINE**

**Blaž Dumančić**

**KARAKTERIZACIJA METABOLIČKOG**

**I IMUNOSNOG PROFILA TIJEKOM**

**TRUDNOĆE**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2023.**

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**

**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PRIJEDIPLOMSKI I**

**DIPLOMSKI STUDIJ MEDICINE**

**Blaž Dumančić**

**KARAKTERIZACIJA METABOLIČKOG**

**I IMUNOSNOG PROFILA TIJEKOM**

**TRUDNOĆE**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2023.**

Rad je izrađen u Laboratoriju za medicinsku genetiku pri Katedri za medicinsku biologiju i genetiku Medicinskog fakulteta Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.

Provedeno istraživanje dio je internog istraživačkog projekta IP17 (2021): „Analiza limfocitnih subpopulacija kod trudnica s gestacijskim dijabetesom“, voditeljica projekta izv. prof. dr. sc. Jasenka Wagner Kostadinović.

Mentorica rada: prof. dr. sc. Jasenka Wagner Kostadinović, mag. med. biochem.

Rad ima 49 listova, 18 tablica i 1 sliku.

## **ZAHVALA**

*Zahvaljujem se svojoj mentorici, prof. dr. sc. Jasenki Wagner Kostadinović, na svim savjetima i vodstvu tijekom pisanja ovoga rada, ranojutarnjem odgovaranju na svaki mail i što ste uvijek bili tu za mene i moje dileme oko pisanja ovoga rada. Hvala Vam što ste u meni probudili malog znanstvenika i natjerali me da još jednom promislim o smjeru kojim se želim baviti u budućnosti. 😊*

*Veliko hvala Kristini Kralik, prof., na pomoći u interpretaciji statističkih rezultata jer bez nje ovaj rad ne bi bio ovako uspješan.*

*Zahvaljujem se J. Omazić, mag. med. biochem., na svesrdnoj pomoći pruženoj u laboratorijskom dijelu istraživanja, kao i dostupnosti za sve upite oko referentnih vrijednosti.*

*Zahvaljujem i Neni Arvaj, zdr. lab. tehn., na pomoći u laboratorijskom radu.*

*Hvala svima koji su tijekom studiranja bili uz mene, a najviše mojim roditeljima i prijateljima koji su vjerovali u mene i kada sam mislio da neke stvari neću uspjeti.*

*Uspjeli smo, zajedno!*

## SADRŽAJ RADA

1. UVOD.....	1
1.1. Gestacijski dijabetes.....	1
1.2. Inzulin i njegovi učinci.....	2
1.3. Promjene metabolizma u trudnoći i gestacijskom dijabetesu.....	3
1.4. Posteljica – središnji organ zahvaćen upalom u gestacijskom dijabetesu.....	6
1.5. Upalni pokazatelji u gestacijskom dijabetesu.....	7
1.6. Metabolički pokazatelji u gestacijskom dijabetesu.....	9
2. HIPOTEZA.....	10
3. CILJEVI.....	11
4. ISPITANICI I METODE.....	12
4.1. Ustroj studije.....	12
4.2. Ispitanici.....	12
4.3. Metode.....	13
4.3.1. Protočna citometrija.....	14
4.3.2. Statističke metode.....	14
5. REZULTATI.....	16
6. RASPRAVA.....	29
7. ZAKLJUČAK.....	37
8. SAŽETAK.....	38
9. SUMMARY.....	39
10. LITERATURA.....	40
11. ŽIVOTOPIS.....	47
12. PRILOZI.....	49

## POPIS KRATICA

Akt2 – protein kinaza B

APTV – aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme

BCR – B-stanični receptor, prema engl. *B-cell receptor*

BMI – indeks tjelesne mase, prema engl. *Body mass index*

CD – klaster diferencijacije, prema engl. *cluster od differentiation*

CR1 – komplementni receptor 1, prema engl. *complement receptor type 1*

CRP – C-reaktivni protein

GDM – gestacijski dijabetes melitus

GLUT – glukozni transporter

GUP – glukoza u plazmi

HbA1c – glikozilirani hemoglobin

HDL – lipoprotein velike gustoće, prema engl. *high density lipoprotein*

HOMA-IR – homeostatski model procjene inzulinske rezistencije, prema engl. *homeostatic model assessment for insulin resistance*

hPL – humani placentalni laktogen

hsCRP – visoko osjetljivi C-reaktivni protein, prema engl. *high sensitive CRP*

Ig – imunoglobulin

IGF-1 – inzulinu sličan čimbenik rasta, prema engl. *insulin-like growth factor*

IL – interleukin

IR – inzulinski receptor

IRS-1 – supstrat 1 inzulinskog receptora, prema engl. *insulin receptor substrate 1*

K3EDTA – trikalij etilendiamintetraoctena kiselina, prema engl. *tripotassium ethylenediaminetetraacetic acid*

KBC – Klinički bolnički centar

LDL – lipoprotein male gustoće, prema engl. *low density lipoprotein*

MCH – srednji stanični hemoglobin, prema engl. *mean corpuscular hemoglobin*

MCV – srednji stanični volumen eritrocita, prema engl. *mean corpuscular volume*

mRNA – glasnička ribonukleinska kiselina, prema engl. *messenger ribonucleic acid*

NK stanice – prirodno ubilačke stanice, prema engl. *natural killer cells*

NKT stanice – prirodno ubilačke T-stanice, prema engl. *natural killer T-cells*

NMB – Nacionalna memorijalna bolnica

OGTT – test oralnog opterećenja glukozom, prema engl. *oral glucose tolerance test*

PI3K – fosfatidilinozitol-3-kinaza, prema engl. *phosphoinositide-3-kinase*

PRL – prolaktin

PV – protrombinsko vrijeme

ROS – reaktivne kisikove vrste, prema engl. *reactive oxygen species*

SE – sedimentacija eritrocita

T2DM – diabetes mellitus tip 2, prema engl. *type 2 diabetes mellitus*

TG – trigliceridi

TNF-alfa – čimbenik tumorske nekroze alfa, prema engl. *tumor necrosis factor alpha*

Treg – regulatorne T-stanice

VLDL – lipoprotein vrlo male gustoće, prema engl. *very low density lipoprotein*



## 1. UVOD

### 1.1. Gestacijski dijabetes

Gestacijski dijabetes prolazno je medicinsko stanje koje se najčešće javlja između 24. i 28. tjedna trudnoće, a karakterizirano je intolerancijom ugljikohidrata, hiperglikemijom, perifernom inzulinskom rezistencijom, nedovoljnom funkcijom ili izlučivanjem inzulina, endotelnom disfunkcijom i upalom niskog intenziteta tijekom trudnoće (1). Prema podacima Međunarodne federacije za dijabetes u 2021. godini, njegova prevalencija u Hrvatskoj iznosila je 4.3 %, u Europi 15 %, a u svijetu 16,7 % (2). Etiologija bolesti nije razjašnjena u potpunosti, ali pretpostavlja se da je uzrokovana multifaktorijalno. Postoje tri osnovne vrste dijabetesa – autoimuni tip (tip 1), uzrokovan inzulinskom rezistencijom (tip 2), ali moguć je i dijabetes uzrokovan drugim uzrocima poput genskih mutacija, bolesti egzokrinog pankreasa ili lijekovima (3, 4). Od ranije poznati dijabetes tipa 1 ili 2 smatraju se pregestacijskim dijabetesom u trudnica i treba ga razlikovati od onoga razvijenog u trudnoći. Gestacijski dijabetes može biti uzrokovan na sva tri prethodno navedena načina, iako je približno 80 % uzrokovano disfunkcijom beta-stanica zbog kronične inzulinske rezistencije (5, 6). Rizični čimbenici uključuju pretilost (7) ili veliki dobitak na težini tijekom trudnoće (8), prehranu siromašnu mikronutrijentima (9), stariju dob majke (10), pozitivnu obiteljsku anamnezu u smislu dijabetesa ili inzulinske rezistencije (11), genske polimorfizme (12), etničku pripadnost (13) i sl. Interakcija genetičke predispozicije majke, trudnoće kao fiziološkog stanja i okolišnih čimbenika može biti uzrokom ove bolesti te kao takva imati kratkotrajne i dugotrajne učinke na majku i dijete. U trudnoći, dijabetična majka podložnija je razvoju preeklampsije, eklampsije i polihidramnija. Tijekom poroda povećana je vjerojatnost za indukciju ili njegov operativni dovršetak carskim rezom. Zbog poroda često makrosomnog fetusa javljaju se ozljede perineuma koje se sekundarno mogu inficirati, a moguće je i produljeno krvarenje majke nakon poroda. Posljedice za dijete mogu biti vidljive još u intrauterinom razvoju, a uključuju razvoj kongenitalnih anomalija srca i živčanog sustava. Hiperglikemija majke utječe i na epigenetičko fetalno programiranje zbog čega su takva djeca često makrosomna ili prevelika za gestacijsku dob s povećanim udjelom masti u tijelu. Moguće su i neonatalne komplikacije poput prijevremenog poroda ili mrtvorodenosti, distocija ramena u porodu s posljedičnom ozljedom brahijalnog pleksusa, respiratorni distress i perinatalna asfiksija, hiperbilirubinemija, policitemija, postpartalna hipoglikemija i

hipokalcijemija. Dugotrajne posljedice za majku i dijete uključuju pretilost, dijabetes melitus tipa 1 i 2, razvoj kardiovaskularne bolesti te metabolički sindrom. Oko 60 % žena koje u svojoj opstetričkoj povijesti bolesti imaju gestacijski dijabetes razviju dijabetes melitus tipa 2 kasnije tijekom života (14). U sklopu probira na gestacijski dijabetes, prvo određivanje glukoze natašte radi se pri prvom posjetu trudnice liječniku. Ukoliko je GUP natašte  $>7$  mmol/L ili HbA1c  $>6,5$  % ili slučajnim nalazom utvrđen GUP  $>11,1$  mmol/L radi se o dijabetesu u trudnoći. Između 24. i 32. tjedna gestacije provodi se test opterećenja glukozom sa 75 g glukoze. Vrijednosti OGTT-a određuju se natašte, nakon 60 i 120 minuta. Patološki OGTT ima vrijednosti glukoze natašte  $>5,1$  mmol/L, nakon 60 minuta  $>10$  mmol/L i nakon 120 minuta  $>8,5$  mmol/L (15). Liječenje GDM-a uključuje nefarmakološke i farmakološke metode. Trudnice koje su u prethodnoj trudnoći imale GDM, prije začeća trebaju pokušati postići normalnu tjelesnu masu (bavljenje tjelovježbom, način prehrane) i nadzirati vrijednosti glikemije. Tijekom trudnoće mogu se primijeniti inzulin ili oralni hipoglikemici za regulaciju glikemije. Važno je i kardiokografsko te ultrazvučno praćenje fetusa s osvrtom na mjerenje plodove vode, tjelesnih i dišnih pokreta te tonusa mišića od 32. tjedna. Porod je obično u terminu, a treba nastojati izvesti ga vaginalnim putem kada god je to moguće. Carski rez prihvatljiv je u slučaju makrosomije ili komplikacija (16).

## 1.2. Inzulin i njegovi učinci

Inzulin u svojoj kemijskoj strukturi sadrži dva polipeptidna lanca (A i B) koji su međusobno povezani disulfidnim vezama te ukupno 51 aminokiselinu. Nakon transkripcije inzulinskog gena, mRNA izlazi iz jezgre u citosol te postaje supstrat za ribosome koji vrše translaciju, pri čemu kao produkt elongacije nastaje preproinzulin. Izrezivanjem N-terminalne signalne sekvence od ostatka polipeptida u hrapovom endoplazmatskom retikulumu nastaje proinzulin. Isti se transportira na posttranslacijske modifikacije u Golgijev aparat gdje se cijepa na C-peptid i inzulin. C-peptid iznimno je važan u procesu savijanja proteina. Potom se pakiraju u sekretorne vezikule i procesom egzocitoze otpuštaju u krvotok. Disfunkcija beta-stanica može se dogoditi na mnogo razina sinteze inzulina uključujući poremećaje sinteze proinzulina, posttranslacijskih modifikacija, egzocitoze u vezikulama i sl (17). Sekrecija inzulina strogo je kontrolirana u stanicama Langerhansovih otočića. Glukozni transporteri široka su obitelj membranskih proteina koji omogućuju proces olakšane difuzije. GLUT1 eksprimiran je u fetalnim tkivima, eritrocitima i endotelu barijere krv-mozak. GLUT2 ima široku distribuciju uključujući stanice renalnih tubula, jetre, beta-stanice pankreasa i stanice epitela tankog

crijeva. Osim što beta-stanice eksprimiraju GLUT2, one također imaju glukokinaznu aktivnost što znači da proporcionalno fosforiliraju onoliko glukoze kolika je njezina koncentracija u krvi. GLUT3 sadrže neuroni i stanice posteljice, a GLUT4 adipozno tkivo te stanice skeletnog i srčanog mišićja. U odsutnosti inzulina glukoza ne može ući u stanicu. Vežanjem inzulina za receptor aktivira se fosforilacijska signalna kaskada koja rezultira umetanjem GLUT4 u staničnu membranu adipocita ili miocita procesom egzocitoze i unosa glukoze u stanicu. U odsutnosti inzulina dolazi do endocitoze transportera s površine stanične membrane i fuzije s endosomom te se on ponovno reciklira ovisno o vežanju inzulina. Inzulinski receptor pripada obitelji tirozin-kinaznih receptora. Vežanje inzulina na alfa-podjedinicu receptora rezultira dimerizacijom i autofosforilacijom tirozinskih ostataka što dovodi do aktivacije fosforilacijske signalne kaskade. Poremećaji na razini inzulinskog receptora zbog smanjene ili povećane autofosforilacije mogu smanjiti inzulinsku signalizaciju te biti uzrokom rezistencije (18). Prvo se aktivira protein IRS-1, a posljedično i fosfatidilinozitol-3-kinaza koja katalizira pretvorbu fosfatidilinozitol-4,5-bifosfata u fosfatidilinozitol-3,4,5-trifosfat. Trifosfat potiče aktivnost Akt2 protein kinaze koja utječe na transport GLUT transportera na staničnu membranu. Inzulinska rezistencija događa se kada stanice više ne mogu odgovoriti na fiziološki učinak inzulina primjerice zbog defekta u signalizaciji inzulina, poremećaja na razini GLUT4 transportera i sl (17). Unos glukoze u stanice stimuliran inzulinom snižen je za 54 % u gestacijskom dijabetesu u odnosu na normalnu trudnoću (19). Inzulin je jedan od najvažnijih hormona koji kontroliraju potrošnju metaboličkih goriva u perifernim tkivima, a učinci su mu primarno anabolički. U jetri potiče glikogenezu i inhibira glukoneogenezu dok u mišićju također potiče glikogenezu i sintezu proteina potičući influks aminokiselina. Inzulin djeluje kao čuvar masnog tkiva jer povećava sintezu i skladištenje triglicerida zbog pojačanog unosa glukoze te inhibira lipolizu djelovanjem na unutarstaničnu hormon ovisnu lipazu.

### **1.3. Promjene metabolizma u trudnoći i gestacijskom dijabetesu**

Tijekom trudnoće događaju se mnogobrojne fiziološke, adaptacijske promjene u organizmu žene koje su posljedica lučenja mnogih hormona. Majčina reakcija na trudnoću uključuje povećanje tjelesne mase trudnice, promjene metabolizma, cirkulacijskog sustava s koagulacijom, funkcije jetre i bubrega, endokrinog sustava i sl. Povećanju mase trudnice doprinose rast fetusa, plodova voda i posteljica, skladištenje masti te pojačano lučenje aldosterona i estrogena koje uzrokuje bubrežno zadržavanje tekućine. U cirkulacijskom

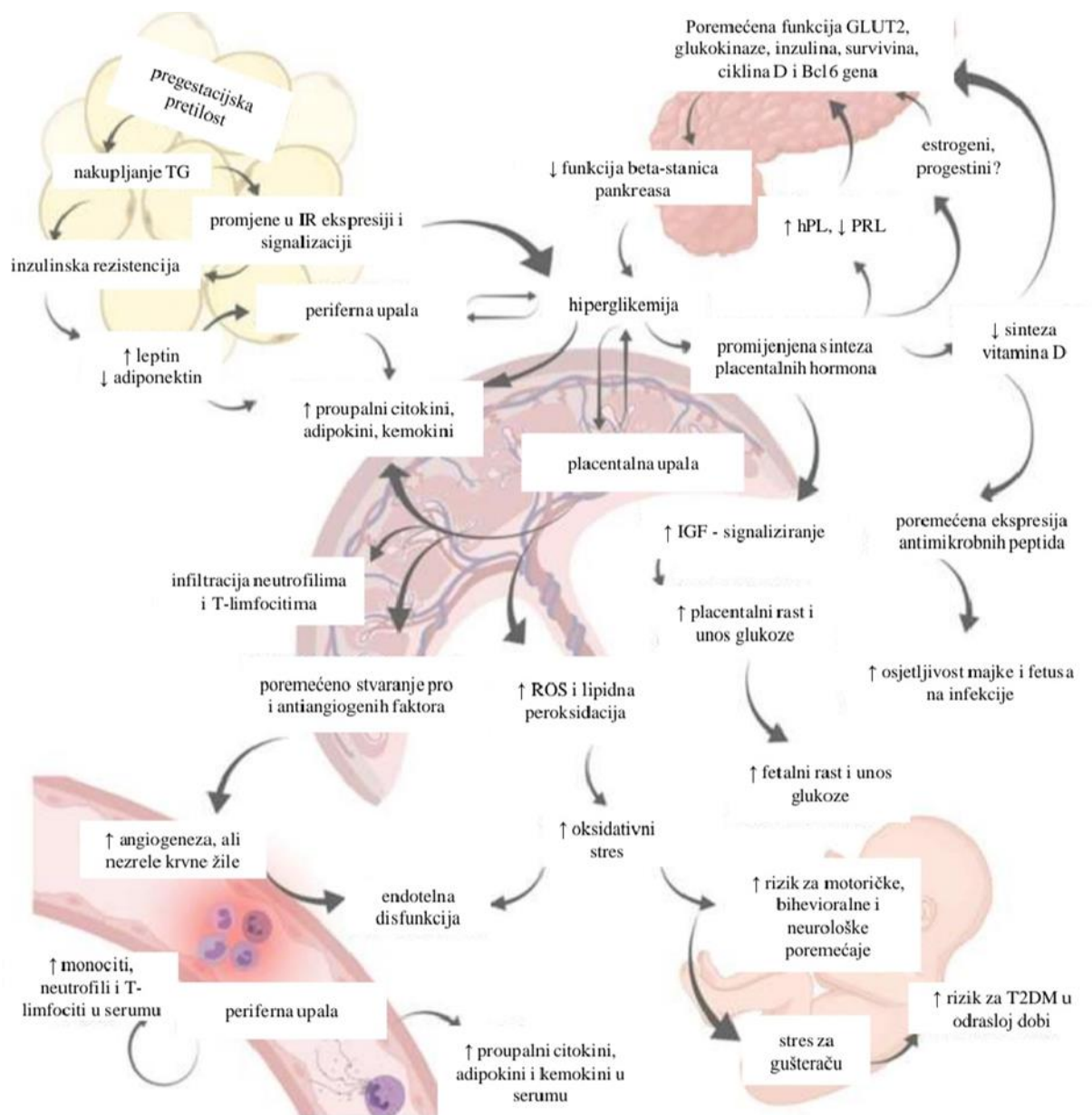
sustavu dolazi do porasta volumena krvi i porasta broja eritrocita kako bi se zadovoljile pojačane potrebe za oksigenacijom. Masa eritrocita raste, a time i kapacitet za prijenos kisika. Porast broja eritrocita ne prati porast volumena krvne plazme što dovodi do fiziološke hemodilucije i relativne anemije. Praćena je padom hemoglobina, hematokrita i padom broja eritrocita uz očuvan MCV. Majka ima povećanu potrebu za željezom zbog pojačane eritrocitopoeze, sinteze enzima, hemoglobina i potreba fetusa. Zbog hemodilucije može doći do relativnog pada broja trombocita bez osobite patologije. Leukociti (osobito nesegmentirani granulociti), SE i CRP rastu prema terminu poroda dok titar antibakterijskih i antivirusnih protutijela pada. Koagulacijski sustav uravnotežen je sustav prokoagulantnih i antikoagulantnih faktora, fibrinolitičkih i adhezivnih proteina, trombocita i vaskularnog endotela. U trudnoći opada količina antikoagulantnih faktora i fibrinolitička aktivnost što rezultira stanjem hiperkoagulabilnosti koja je vrlo važna za normalnu implantaciju i rast posteljice, ali i zaštitu majke od prekomjernog krvarenja pri porodu. APTV i PV se skraćuju uz porast D-dimera. Promjene metabolizma događaju su tijekom cijele trudnoće. Prva faza trudnoće obilježena je anabolizmom s obzirom na to da trudnica stvara zalihe za rast i razvoj fetusa. Nasuprot tomu, druga je faza katabolička s obzirom na to da je fetus sve veći i ima rastuće metaboličke potrebe. Promjene se događaju u više različitih tkiva istovremeno pa tako dolazi i do porasta bazalnog metabolizma trudnice. Važnost metaboličkih promjena u trudnoći je dvojaka – majka mora zadovoljiti vlastite potrebe za energijom, ali i potrebe rastućeg fetusa. Kako bi to uspjela, majka mora prilagoditi vlastiti metabolizam ugljikohidrata, proteina i masti potrebama fetusa. Trudnoća je stanje fiziološke inzulinske rezistencije koja se primarno razvija pod utjecajem hormona posteljice (humani placentalni laktogen, progesteron, estrogen), ali i prolaktina te kortizola. Ona polagano raste tijekom trudnoće, doseže svoj vrhunac između 24. i 28. tjedna te se tada stabilizira. Dijabetične trudnice imaju veći stupanj inzulinske rezistencije u odnosu na fiziološku rezistenciju koja se javlja tijekom trudnoće (20). Sve što majka unese prehranom transportira se fetusu preko posteljice (glukoza, aminokiseline i slobodne masne kiseline). Ovo je važno jer je fetus hormonski autonoman (proteini ne prelaze placentalnu barijeru), ali za svoje metaboličke supstrate ovisi izravno o majci. Iz toga razloga, fetalna potrošnja glukoze, sinteza njegovih vlastitih proteina, masti i glikogena ovisi o majčinom unosu. Kada periferna inzulinska rezistencija ne bi postojala, majka bi glukozu trošila ili skladištila u jetri, mišićju i adipocitima te je ona stoga evolucijska prilagodba za preživljenje fetusa. Kao posljedicu inzulinske rezistencije u majke nalazimo prolaznu postprandijalnu hiperglikemiju. Na takav način glukoza iz krvi majke može prijeći posteljicu i biti izvor supstrata za fetus, a ne metaboličko gorivo za majčine potrebe. Fetus

ima stalnu potrebu za glukozom stoga majka noću troši svoje zalihe i ujutro razvija hipoglikemiju natašte. Kompenzatorno, zbog inzulinske rezistencije perifernih tkiva, pankreas stvara sve više inzulina što rezultira hipertrofijom beta-stanica i hiperinzulinemijom. Smatra se da beta-stanice propadaju zbog prekomjerne proizvodnje inzulina kao odgovora na otpornost perifernih tkiva što ih s vremenom iscrpljuje (21). Majka dobiva na težini tijekom 9 mjeseci trudnoće što je uglavnom posljedica retencije vode te stvaranja proteinskih i masnih zaliha. Krajem drugog tromjesečja trudnoće događa se obrat iz anaboličke u kataboličku fazu. U tom trenutku dolazi do učinka humanog placentalnog laktogena. To je neglikozilirani polipeptid čija koncentracija progresivno raste između 3. i 34. tjedna gestacije i osnovna mu je uloga stimulacija lipolize. S obzirom na to da se zalihe masti stvaraju tijekom prva dva tromjesečja, u ovom trenutku dolazi do zamjene u potrošnji metaboličkih goriva. Fetus je sve veći sa rastućim metaboličkim potrebama te je njemu transferirana majčina glukoza. Majka je izložena ubrzanom starvaciji, iako unosi hranu te mora zadovoljiti svoje potrebe iz drugog energetskog supstrata, a to je mast. Pod utjecajem humanog placentalnog laktogena, aktivira se lipoliza triglicerida u adipocitima stimulacijom hormon ovisne lipaze koja će rezultirati nastankom slobodnih masnih kiselina. One će se koristiti kao majčin izvor energije. Ukoliko ovaj mehanizam ne funkcionira, majka izložena gladovanju pojačano stvara ketonska tijela u jetri što rezultira ketonemijom i ketonurijom. Ketoza je izravno toksična za dijete jer ketonska tijela prelaze posteljicu. Fetus ih može djelomično koristiti kao izvor energije (slično mozgu), ali ukoliko su u suvišku imaju izravni toksični učinak na središnji živčani sustav (anencefalija, spina bifida), kardiomiocite, razvoj nepca i gastrointestinalnog sustava, a mogu dovesti i do iznenadne smrti fetusa. GDM je povezan sa smanjenom diferencijacijom i hipertrofijom adipocita što dodatno, uz inzulinsku rezistenciju, otežava odgovor na inzulin (22). GDM je povezan i s pojačanom proizvodnjom glukoze u jetri. Glukoza ulazi u jetru neovisno o djelovanju inzulina, ali s obzirom na to da postoje zajedničke kontrolne točke u putu djelovanja inzulina i glukoneogeneze (PI3K), to bi mogao biti razlog (23). Hiperglikemija je povezana s nastankom oksidativnog stresa, a zabilježeno je da žene s GDM-om prekomjerno proizvode reaktivne kisikove vrste i imaju oslabljene mehanizme njihove neutralizacije antioksidativnim mehanizmima (24). ROS interferiraju s nizvodnim regulatorima u inzulinskoj signalnoj kaskadi i tako sprječavaju influks glukoze posredovan inzulinom. Također djeluju i na unutarstaničnoj razini tako što usporavaju sintezu glikogena u perifernim tkivima. Poremećeni transport aminokiselina može biti jedan mehanizam kojim prekomjerni unos proteina doprinosi GDM-u, a sve zbog djelovanja proupalnih citokina (25). Neka

istraživanja tvrde da je velik dio metaboličkih promjena u dijabetičnoj posteljici uzrokovan upravo u lipidnim putevima (67 %), u usporedbi s glukoznim putevima (9 %) (26).

#### **1.4. Posteljica - središnji organ zahvaćen upalom u gestacijskom dijabetesu**

U pretilih majki dolazi do nakupljanja triglicerida kao skladišnog oblika energije. Stanice koje su zasićene glukozom višak skladište u mast. Kao posljedica navedenoga javlja se periferna inzulinska rezistencija jer stanice više ne odgovaraju na djelovanje inzulina. Masno tkivo pojačano izlučuje hormon sitosti – leptin, što za posljedicu ima stvaranje proupalnih citokina i upalu perifernog tkiva. U upali dolazi do hiperglikemije jer ona dodatno pojačava inzulinsku rezistenciju. Hiperglikemija majke potiče sintezu proinflamatornih citokina u posteljici i njezinu upalu, a posljedično izaziva i hiperglikemiju fetusa uz promijenjenu funkciju GLUT transportera. Hiperglikemija negativno djeluje i na izlučivanje hormona posteljice. Snižena je sinteza prolaktina i vitamina D, a povećana humanog placentalnog laktogena (27). Ovi hormoni doprinose smanjenju hipertrofije beta-stanica koja se kompenzatorno javlja kao odgovor na rezistenciju, a hiperglikemija se pogoršava. Smanjena sinteza vitamina D utječe na ekspresiju antimikrobnih peptida koji čine jedan od mehanizama imunološke obrane u fetusa i čine ga ranjivim na infekcije (27). Zbog prekomjerne ekspresije IGF-1, potiče se pojačani unos glukoze fetusu što rezultira makrosomijom (27). Kao posljedica kronične upale, posteljica je infiltrirana upalnim stanicama, a dolazi i do poremećenog stvaranja pro i antiangiogenih faktora te razvoja oksidativnog stresa. Oba posljednja čimbenika rezultiraju upalom endotela krvožilja i potpomažu njegovu infiltraciju upalnim stanicama. Zbog stvaranja štetnih kisikovih radikala dolazi do oštećenja i drugih organa, primarno pankreasa i mozga, a moguć je i nastanak dijabetesa melitusa tip 2 u odrasloj dobi.



Slika 1. Patofiziologija upale posteljice u gestacijskom dijabetesu s prikazanim posljedicama. Prilagođeno prema Olmos-Ortiz i sur. uz dopuštenje autora (27).

### 1.5. Upalni pokazatelji u gestacijskom dijabetesu

Kronična upala jedna je od karakteristika ove bolesti. Mnoga istraživanja pokušala su na temelju upalnih pokazatelja pronaći dovoljno specifični rani prediktivni biomarker gestacijskog dijabetesa pa čak i tijekom prvoga tromjesečja trudnoće. CRP i hsCRP proteini su akutne faze upale, a povišeni su tijekom trudnoće. Trudnice s GDM-om pokazuju veće koncentracije oba pokazatelja u usporedbi sa zdravim trudnicama (28, 29, 30). CRP kao marker gestacijskog dijabetesa je nespecifičan jer različita upalna stanja mogu djelovati na

njegovu koncentraciju u krvi. Različite studije koristile su različite metode za procjenu CRP-a pa neke od njih nisu dokazale povišeni CRP u dijabetičnih trudnica (31). Nadalje, kada se u razmatranje uzme i BMI, odnos između CRP-a i GDM-a postaje slabiji ili u potpunosti nestaje (32). Eritrociti su stanice važne za prijenos kisika, a na svojoj površini imaju receptore za komponente komplementa poput CR1 koji imaju veliki afinitet za komplementom obloženim imunokompleksima. Žene s GDM-om obično imaju više vrijednosti eritrocita, a niži MCV i MCH (33). Leukociti su biomarker za sistemsku upalu, a prema subpopulaciji koja prevladava u imunom odgovoru moguće je zaključiti o uzroku upale. U trudnoći fiziološki dolazi do porasta broja leukocita kako trudnoća napreduje jer oni čine obrambeni mehanizam kako za majku tako i za dijete od različitih patogena. Dijabetičarke obično imaju veći broj ukupnih leukocita, a posebno neutrofila, limfocita i monocita (33, 34). Broj samih stanica obično nije dovoljan da bi bio prediktor gestacijskog dijabetesa, ali određena istraživanja pokazala su da omjeri pojedinih stanica dobro koreliraju s pojavnosću dijabetesa poput omjera monocita i limfocita ili neutrofila i limfocita (35, 36). Trombociti su krvne pločice koje nastaju degranulacijom megakariocita, a važni su u procesu koagulacije. Također djeluju u sklopu upalnoga odgovora tako što izražavaju mnoštvo adhezivnih molekula za upalne stanice kako bi došle na mjesto upale ili ozljede. Oko njihova broja u dijabetičnih trudnica postoje kontradiktornosti jer su neke studije ukazale da njihov broj raste u dijabetičnih trudnica, a neke nisu (36, 37). Imunološki sustav čine dva osnovna dijela – urođeni i stečeni. Urođena imunost karakterizirana je nespecifičnošću i jednakim upalnim odgovorom na svakog uzročnika te predstavlja prvu liniju obrane od patogena. Čine ju makrofagi, granulociti, Langerhansove dendritičke stanice i NK-stanice. S druge strane, u stečenom imunitetu postoji memorijsko pamćenje stanica koje su prethodno bile u kontaktu s patogenom, pri čemu svaki idući kontakt s uzročnikom izaziva snažniji upalni odgovor. Glavne stanice stečene imunosti su B-limfociti odgovorni za humoralni odgovor posredovan protutijelima i T-limfociti. T-limfociti mogu biti pomoćnički i citotoksični. Imunološki odgovor ovisi o ravnoteži između pomoćničkih (Th1 i Th17) stanica koje djeluju proupalno te regulatornih T-stanica i Th2 stanica koje djeluju protuupalno. U gestacijskom dijabetesu omjer proupalnih i protuupalnih stanica mijenja se s povećanjem Th1 i Th17 stanica i smanjenjem Th2 i Treg stanica (38). Povišene su koncentracije CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> T-stanica. Th1 stanice luče citokine poput interferona gama, IL-2 i TNF-alfa. Th2 stanice luče IL-4 i IL-13 između ostalih, a Th17 kojima brojnost raste u trećem tromjesečju IL-17 koji igra važnu ulogu u kroničnoj i autoimunoj upali (39, 40, 41). Treg luče IL-10 koji je odgovoran za modulaciju odgovora između Th1 i Th2 (42). Postotak B limfocita pozitivno je povezan s inzulinskom



rezistencijom, a prethodne studije pokazale su da B-stanice potiču otpornost na inzulin putem modulacije drugih limfocita i proizvodnje patogenih antitijela (43). Koncentracija IgA viša je u krvi dijabetičarki (43). IgG značajnije pada tijekom trudnoće zbog transplacentalnog prijenosa, kao i ukupni proteini zbog promjena u njihovoj sintezi pod djelovanjem hormona i prisutnosti medijatora upale.

### **1.6. Metabolički pokazatelji u gestacijskom dijabetesu**

Glikozilirani hemoglobin, HbA1c, pokazatelj je glikemijskog statusa tijekom dužeg vremenskog razdoblja. Osnovni problem s ovim pokazateljem je u činjenici što je nekoliko studija objavilo različite pragove pri kojima je nalaz moguće smatrati patološkim u trudnoći (44, 45). Većina laboratorijskih nalaza prema stručnim smjernicama bazirana je na graničnoj vrijednosti od 6,5 %, a sve što je više od toga govori u prilog gestacijskog dijabetesa. HOMA indeks jedan je od načina procjene inzulinske rezistencije. Izračunava se iz vrijednosti glukoze i inzulina vađenih ujutro natašte. Prema referentnim vrijednostima, ukoliko je vrijednost indeksa veća od 1,9 govori se o ranoj inzulinskoj rezistenciji, a ukoliko je veća od 2,9 onda govorimo o značajnoj rezistenciji. Dosadašnji rezultati po pitanju njegove vrijednosti kao biomarkera su kontradiktorni (30, 46). Inzulin izmjeren natašte i C-peptid pokazuju dobru osjetljivost i specifičnost te su oba pokazatelja viši u dijabetičkih trudnica. Osnovni problem u njihovom korištenju kao biomarkera je činjenica da se oba određuju imunokemijski što znači da su podložni različitim interferencijama, a i ne postoje ustaljeni kriteriji za interpretaciju rezultata. Iako su potencijalno dobri prediktori, zbog ranije navedenoga nisu pogodni kao biomarkeri. U normalnoj trudnoći, od 12. tjedna rastu fosfolipidi, kolesterol (ukupni, HDL, LDL) i trigliceridi zbog stimulativnog učinka estrogena i inzulinske rezistencije. Majka povećava zalihe masti koje će joj biti primarni izvor energije dok su to za fetus glukoza i aminokiseline. Fetusu su lipidi majke važni kao izvor energije, ali i za razvoj staničnih membrana, kao prekursori žučnih kiselina i steroida. Trigliceridi rastu za dva do tri puta i često su povećani u dijabetičarki dok vrijednosti HDL-a padaju (30). Različita stanja mogu utjecati na metabolizam lipida stoga mjerenje njihovog profila nije dostatno za potvrdu dijagnoze gestacijskog dijabetesa (30).

## 2. HIPOTEZA

Pojedini imunološki i metabolički biljezi iz krvi trudnica mogu poslužiti kao prediktivni i/ili dijagnostički biljezi gestacijskog dijabetesa.

### 3. CILJEVI

Istraživanjem će se utvrditi mogu li pojedini metabolički i imunološki pokazatelji iz krvi trudnica poslužiti kao prediktivni i/ili dijagnostički biomarker u ranom otkrivanju gestacijskog dijabetesa.

## 4. ISPITANICI I METODE

### 4.1. Ustroj studije

Istraživanje je dizajnirano kao prospektivna kohortna studija. Trudnice su svrstane u jednu od dvije skupine ovisno o riziku za razvoj gestacijskog dijabetesa. U prvu skupinu, tj. onu s niskim rizikom za razvoj gestacijskog dijabetesa uključene su trudnice koje imaju normalne vrijednosti glukoze i HbA1c, normalnu tjelesnu masu ( $BMI < 25$ ), nemaju gestacijski dijabetes ili drugu patologiju trudnoće u prethodnoj/prethodnim trudnoćama, nemaju dijabetes u obiteljskoj anamnezi te malformacije ploda. U drugu skupinu, tj. onu s visokim rizikom za razvoj gestacijskog dijabetesa uključene su trudnice koje imaju povišene vrijednosti glukoze (u 1. tromjesečju  $> 5.1$  mmol/L ili OGTT s patološkim vrijednostima između 24. i 28. tjedna trudnoće) i HbA1c, povećanom tjelesnom težinom ( $BMI > 25$ ), gestacijskim dijabetesom u prethodnim trudnoćama ili šećernom bolesti u trudnoći te trudnice starije životne dobi ( $> 35$  godina). Isključni kriteriji bili su nepotpisivanje informiranog pristanka i razvoj neke druge bolesti u trudnoći (preeklampsija i sl.).

### 4.2. Ispitanici

Studija je provedena na uzorcima krvi trideset trudnica koje su prethodno pročitale i potpisale informirani pristanak koji je odobrilo Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta u Osijeku i Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra u Osijeku. Uzorkovanje periferne venske krvi odvijalo se u ambulanti Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Osijek i Odjelu za laboratorijsku i transfuzijsku medicinu NMB „dr. Juraj Njavro“ Vukovar trudnicama koje su dobrovoljno pristale sudjelovati u istraživanju. Trudnice u 1. tromjesečju trudnoće ispunile su upitnik koji je prethodno odobrilo Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta u Osijeku. U upitniku su se nalazila pitanja vezana uz stil života i rizične faktore, prehrambene navike i fizičku aktivnost, povijest bolesti s posebnim osvrtom na ginekološku i opstetričku anamnezu te pitanja vezana uz aktualnu trudnoću. Kada su iste trudnice došle u 3. tromjesečje trudnoće popunile su novi upitnik s pitanjima o trenutnoj tjelesnoj masi, vrijednostima OGTT-a u 24. i 28. tj. gestacije, o razvoju gestacijskog dijabetesa ili nekih drugih komplikacija tijekom aktualne trudnoće te postoji li nekakva terapija za navedena stanja i kakva, ukoliko postoji. Prikupljanje uzoraka trajalo je od rujna 2021. g. do svibnja

2023. g. Osnovni kriterij prema kojemu su odabrane trudnice bio je da su trenutno dobrog općeg stanja i bez poznatih imunoloških bolesti. Uzorkovanje krvi učinilo se između šestog i dvanaestog gestacijskog tjedna u prvom tromjesečju trudnoće te između tridesetog i trideset osmog tjedna trudnoće u trećem tromjesečju trudnoće.

### 4.3. Metode

Svakoj trudnici uzorkovana je krv u 1. i 3. tromjesečju trudnoće. Svakoj trudnici uzorkovane su tri epruvete periferne venske krvi u BD Vacutainer (BD, New Jersey, SAD) s antikoagulansom K3EDTA i jedna serumaska epruveta periferne venske krvi u BD Vacutainer (BD, New Jersey, SAD). U trećem tromjesečju svim ispitanicama uzorkovane su dvije epruvete periferne venske krvi u BD Vacutainer (BD, New Jersey, SAD) s antikoagulansom K3EDTA i jedna serumaska epruveta periferne venske krvi u BD Vacutainer (BD, New Jersey, SAD). Analize su učinjene u uzorcima svježe pune krvi, seruma i plazme. Serum i plazma pripremljeni su centrifugiranjem serumske epruvete i jedne K3EDTA epruvete na brzini od 3000 g 10 minuta na sobnoj temperaturi. Analizirali su se laboratorijski pokazatelji vezani uz gestacijski dijabetes prema uputama proizvođača. Glukoza se odredila enzimskom metodom s heksokinazom, inzulin i C-peptid elektrokemiluminiscentnim imunoesejem, trigliceridi enzimskom kolorimetrijskom metodom s lipoprotein lipazom, HDL i LDL kolesterol homogenom enzimatskom kolorimetrijskom metodom, hs-CRP i kvantifikacija imunoglobulina klase IgG, IgM i IgA imunoturbidimetrijom, a HbA1C turbidimetrijskom inhibicijskom imunokemijskom metodom. Kao analizator koristio se Cobas Pro, Roche, Njemačka. Iz uzoraka pune krvi trudnica radila se analiza limfocita, NK i NKT stanica. Analizirane su kombinacije površinskih staničnih biljega CD3+, CD5+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3-CD16+CD56+, CD3+CD16+CD56+, CD19+CD20+, CD19+CD5+ koji definiraju pojedine leukocitne subpopulacije i određuju njihove funkcije. Površinski biljezi limfocita, NK stanica i NKT stanica analizirani su pomoću komercijalnih reagensa koji sadrže specifična monoklonska protutijela obilježena fluorokromom (Beckton Dickinson, Njemačka): BD Multitest CD3 FITC/CD8 PE/CD45 PerCP/CD4 APC, BD Multitest CD3 FITC/CD16+56 PE/CD45 PerCP/CD19 APC, BD CD69 Vioblue, BD CD14 FITC, BD CD25 PE i BD HLA-DR PerCP. Analiza je provedena metodom protočne citometrije (citometar BD LSR II sa softverima za akviziciju BD FACSDiva 8.0.1. i za analizu FloJo, Beckton Dickinson, Njemačka).

### 4.3.1. Protočna citometrija

Protočna citometrija laserska je metoda koja se koristi za određivanje fizikalnih i kemijskih karakteristika stanica. Uzorak pogodan za analizu na protočnom citometru mora biti suspenzija stanica. U protočnom dijelu citometra, suspenzija stanica u tekućini prolazi kroz tanke kapilare sustava. Prolazak kroz kapilare citometra odvija se tako da jedna stanica prolazi iza druge što je važno za kasniju pravilnu interpretaciju signala. Nakon što stanica dođe u kontakt s laserskom zrakom iz optičkog dijela uređaja, ona reflektira svjetlost određene valne duljine koja se potom detektira u elektronskom dijelu uređaja, tj. na detektoru. Ovisno o stupnju refleksije, citometar klasificira stanice prema veličini i zrnatosti. Nakon što računalo obradi podatke, dobije se prikaz prema omjeru veličine i zrnatosti u koordinatnom sustavu gdje na apscisi očitavamo veličinu stanica, a na ordinati zrnatost. U uzorku krvi, stanice koje imaju najmanju veličinu i zrnatost su limfociti, malo veće i zrnatije su monociti dok su najveće i granulirane stanice definirane kao granulociti. Kako bi se stanice mogle pravilno razlikovati moraju se označiti specifičnim protutijelima koja imaju vezanu molekulu fluorokroma. Fluorokrom apsorbira svjetlost iz laserske zrake i pri povratku elektrona u osnovno stanje emitira svjetlost određene valne duljine. Svaki fluorokrom ima različit apsorpcijsko - emisijski spektar što omogućuje razlikovanje staničnih subpopulacija. Najčešće korišteni fluorokromi su fikoeritrin, fluorescein-izotiocijanat, etidij-bromid, akridin orange i sl (47). Kod analize limfocitnih subpopulacija važno je poznavati klastere diferencijacije. To su molekule koje su eksprimirane na staničnoj membrani imunoloških stanica, a važne su u signalizaciji i komunikaciji između njih jer često djeluju kao receptori ili ligandi. Svaka podvrsta limfocita ima na svojoj površini eksprimirane specifične klastere diferencijacije što omogućuje njihovu međusobnu diferencijaciju. Kao marker leukocita koristi se CD45, limfocita T CD3, CD4 i CD8, limfocita B CD19 i CD20, a NK stanica CD16 i CD56 (47).

### 4.3.2. Statističke metode

Kategorički podaci predstavljeni su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Normalnost raspodjele numeričkih varijabli testirana je Shapiro - Wilkovim testom, a zbog razdiobe koja ne slijedi normalnu, podaci su opisani medijanom i granicama interkvartilnog raspona. Za testiranje razlika kontinuiranih varijabli između dvije nezavisne skupine koristili smo Mann Whitneyev U test. Sve  $P$  vrijednosti su dvostrane. Razina značajnosti je postavljena na

#### 4. ISPITANICI I METODE

Alpha = 0,05. Za analizu podataka korišten je statistički program MedCalc® Statistical Software version 20.218 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2023) i SPSS ver. 23 (*IBM Corp. Released 2015. IBM SPSS, Ver. 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.*).

## 5. REZULTATI

Istraživanje je provedeno na 30 ispitanica s medijanom dobi od 30 godina (interkvartilnog raspona od 26 do 34 godine) u rasponu od najmanje 22 do najviše 40 godina. S obzirom na stručnu spremu, njih 12 (40 %) ima srednju stručnu spremu, a višu ili visoku njih 18 (60 %). Medijan tjedna gestacije je 9, u rasponu od najmanje 6 do najviše 12 tjedana. Prije trudnoće, indeks tjelesne mase je za 18 (60 %) ispitanica normalan, u rasponu od  $19 \text{ kg/m}^2$  –  $24,9 \text{ kg/m}^2$ , a razlika do sada u kilogramima se kreće od -4 do 5 kilograma, s medijanom 0. Omjer struk bokovi 12 (40 %) ispitanica ima  $< 0,8$  (Tablica 1).

Tablica 1. Osnovna obilježja ispitanica

	Broj (%) ispitanica
Razina obrazovanja	
Srednja stručna sprema	12 (40)
Viša stručna sprema	7 (23,3)
Visoka stručna sprema	11 (36,7)
Gestacijski tjedan	9 (8 – 10)
[Medijan (interkvartilni raspon)]	
ITM prije trudnoće	
ispod $19 \text{ kg/m}^2$	3 (10)
$19 \text{ kg/m}^2$ – $24,9 \text{ kg/m}^2$	18 (60)
$25 \text{ kg/m}^2$ – $29,9 \text{ kg/m}^2$	8 (26,7)
$\geq 30 \text{ kg/m}^2$	1 (3,3)
Razlika kilograma (do sada) (kg)	0 (0 – 2)
[Medijan (interkvartilni raspon)]	
Omjer struk/bokovi	
$< 0,8$	12 (40)
$0,81$ – $0,85$	7 (23,3)
$\geq 0,86$	11 (36,7)

Puši cigarete 13 (43 %) ispitanica, a medijan broja šalice kava na dan je jedna u rasponu od niti jedne do 3 šalice kave. Rijetko se bave fizičkom aktivnosti 13 (43 %) ispitanica, a dnevnu aktivnost manju od 30 minuta ima ih 20 (67 %). Raznoliku prehranu ima 27 (90 %) ispitanica (Tablica 2).



Tablica 2. Raspodjela ispitanica prema životnom stilu

	Broj (%) ispitanica
Pušenje	13 (43)
Alkohol	0
Kava (broj šalica) [Medijan (interkvartilni raspon)]	1 (0 – 2)
Fizička aktivnost	
Nikada	5 (17)
Rijetko	13 (43)
Povremeno	9 (30)
Redovito	3 (10)
Dnevna aktivnost	
< 30 minuta	20 (67)
≥ 30 minuta	10 (33)
Raznolika prehrana	27 (90)

Šećernu bolest u obitelji ima 9 (30 %) ispitanica, a lijekove u trudnoći koristi 5 (17 %) ispitanica. Po jedna (3 %) ispitanica navodi anemiju, šum na srcu, a niti jedna poremećaj koagulacije i tromboembolijski poremećaj (Tablica 3).

Tablica 3. Ispitanice prema povijesti bolesti

	Broj (%) ispitanica
Šećerna bolest u obitelji	9 (30)
Lijekovi izvan trudnoće	4 (13)
Lijekovi u trudnoći	5 (17)
Anemija	1 (3)
Poremećaji koagulacije i tromboembolijski poremećaji	0
Endokrine bolesti	3 (10)
Gastrointestinalne bolesti	4 (13)
Migrene	3 (10)
Šum na srcu	1 (3)

Dob kod prve mjesečnice je bila medijana 13 godina, u rasponu od najmanje 11 do najviše 16 godina. Ciklusi su kod većine, 20 (67 %), bili uredni. Spotting između ciklusa bilježi se kod 2 (7 %) ispitanice, dok su problem sa zanošenjem imale njih 2 (7 %). Medijan dosadašnjih poroda je jedan, u rasponu od niti jednog do dva poroda, a raspon pobačaja je bio do 2.

Pobačaj je bio od 6. do najviše 11. tjedna trudnoće. Poremećaj štitnjače imale su 3 (10 %) ispitanice, a gestacijski dijabetes u prethodnoj trudnoći njih 3 (10 %). (Tablica 4).

Tablica 4. Ginekološka i opstetrička anamneza

	Broj (%) ispitanica
Dob prilikom prve mjesečnice [Medijan (interkvartilni raspon)]	13 (12 – 14)
Ciklusi	
Uredni	20 (67)
Obilni	6 (20)
Oskudni	1 (3)
Neredoviti	3 (10)
Spotting između ciklusa	2 (7)
Policistični jajnici	6 (20)
Problemi sa zanošenjem	2 (7)
Broj poroda do sada [Medijan (interkvartilni raspon)]	1 (0 – 1)
Broj pobačaja [Medijan (interkvartilni raspon)]	0 (0 – 1)
Tjedan pobačaja [Medijan (interkvartilni raspon)]	7 (6 – 9)
Poremećaji štitnjače u prethodnoj trudnoći	3 (10)
GDM u prethodnoj trudnoći	3 (10)
Novorođenče teže od 4000g u prethodnoj trudnoći	3 (10)

U 1. tromjesečju aktualne trudnoće, 1 trudnica ima gestacijski dijabetes. Po 4 (13 %) ispitanice imaju upale mokraćnog sustava ili vaginalno krvarenje, a terapiju u trudnoći uzima 10 (33 %) ispitanica. Visok rizik za GDM imalo je 19 (63 %) ispitanica (Tablica 5).

Tablica 5. Ispitanice prema obilježjima aktualne trudnoće u 1. tromjesečju

	Broj (%) ispitanica
Gestacijski dijabetes	1 (3)
Poremećaj štitnjače	2 (7)
Upale mokraćnog sustava	4 (13)
Anemija	1 (3)
Vaginalno krvarenje	4 (13)
Terapija u trudnoći	10 (33)
Visok rizik za GDM	19 (63)

Vrijednosti OGTT-a kretale su se od medijana 4,5 do 6,3 u aktualnoj trudnoći (Tablica 6).

Tablica 6. Vrijednosti OGTT-a aktualne trudnoće

	Medijan (interkvartilni raspon)	Raspon od najniže do najviše vrijednosti
OGTT 1	4,5 (4,3 – 4,9)	4,1 – 5,4
OGTT 2	7,6 (6,7 – 8,8)	6,0 – 11,4
OGTT 3	6,3 (5,3 – 7,3)	4,1 – 9,3

Razlika u kilogramima u 3. tromjesečju je medijana 10 kg, u rasponu od -3 do 16 kilograma. Tri (10 %) ispitanice imaju gestacijski dijabetes i sve 3 su na dijeti. Druge se komplikacije bilježe kod 5 (17 %) ispitanica, a poremećaji štitnjače kod 2 (7 %) ispitanice. Terapiju u trudnoći prima ukupno 5 (17 %) ispitanica (Tablica 7).

Tablica 7. Obilježja aktualne trudnoće (3. tromjesečje)

	Broj (%) ispitanica
Razlika u kilogramima [Medijan (interkvartilni raspon)]	10 (8 – 12)
GDM	3 (10)
Terapija GDM	1 (3)
Inzulin	1 (3)
Dijeta	3 (10)
Druge komplikacije	5 (17)
Poremećaji štitnjače	2 (7)
Upale mokraćnog sustava	1 (3)
Upala rodnice	1 (3)
Anemija	1 (3)
Terapija u trudnoći	5 (17)

U 1. tromjesečju, kod ispitanica s povećanim rizikom za GDM značajno su više vrijednosti hemoglobina (Mann Whitney U test,  $P = 0,008$ ), a značajno niže vrijednosti CRP-a (Mann Whitney U test,  $P = 0,02$ ) u odnosu na one koje imaju nizak rizik (Tablica 8).

Tablica 8. Vrijednosti biokemijskih pokazatelja u 1. tromjesečju prema riziku za GDM

	Medijan (interkvartilni raspon)		P*
	Nizak rizik	Visok rizik	
Eritrociti	4,17 (4,03 - 4,53)	4,4 (4,2 - 4,6)	0,10
Hemoglobin	130 (123 - 131)	137 (132 - 142)	<b>0,008</b>
Trombociti	222 (178 - 256)	273 (217 - 290)	0,08
Leukociti	8,7 (7,7 - 9,5)	8,2 (7,2 - 10,1)	>0,99
Neutrofili	69 (66 - 78)	72 (69 - 74)	0,35
Limfociti	23 (20 - 28)	22 (20 - 25)	0,42
Monociti	4 (2 - 6)	4 (2 - 5)	0,95
Eozinofili	2 (1 - 2)	2 (0 - 2)	0,93
Bazofili	0 (0 - 0)	0 (0 - 1)	0,19
Limfociti (%) ograda	16 (13 - 23)	17 (16 - 20)	>0,99
T-limfociti (%) CD3+	75,6 (73,4 - 77,7)	74,6 (69,5 - 75,8)	0,16
Pomoćnički T-limfociti (%) CD3+CD4+	39,2 (36,6 - 45,1)	41,6 (38,2 - 46,7)	0,65
Citotoksični T-limfociti (%) CD3+CD8+	32,7 (23,6 - 38,6)	27,6 (25,4 - 29,8)	0,27
Pomoćnički/Citotoksični T-limfociti	1,1 (0,9 - 2)	1,5 (1,4 - 1,8)	0,36
NK-stanice (%) CD3-CD16+56+	12,4 (9,5 - 14,2)	14,2 (10,3 - 18,6)	0,22
NKT-stanice (%) CD3+CD16+56+	7,5 (5,4 - 14,2)	5,9 (4 - 10,3)	0,27
NK/NKT stanice	1,1 (0,8 - 2,8)	2,2 (1,1 - 3,3)	0,22
B-limfociti (%) CD19+CD20+	11,3 (8,3 - 13)	9,8 (7,5 - 12,2)	0,38
B-limfociti (%) CD19+CD5+ (ograda svi limfociti)	3,1 (2,1 - 4)	2,4 (2 - 4)	0,59
B-limfociti (%) CD5+ (ograda svi B-limfociti)	27,3 (20,8 - 35,3)	30 (21,4 - 34,8)	0,88
Glukoza	4,5 (4,3 - 4,8)	4,7 (4,4 - 5,1)	0,45
Inzulin	8,4 (4,4 - 10)	9 (6,7 - 13,2)	0,72
C-peptid	0,5 (0,5 - 0,7)	0,7 (0,5 - 0,8)	0,30
HOMA IR	2 (1 - 2)	2 (1 - 3)	0,75
HbA1c	34 (33 - 37)	34 (32 - 35)	0,20
CRP	5 (3,6 - 8,4)	2,8 (1 - 3,8)	<b>0,02</b>
IgG	11,7 (10,6 - 12,2)	10,7 (9,8 - 12,3)	0,43
IgM	1 (0,8 - 1,4)	1 (0,9 - 1,6)	0,71
IgA	2,1 (1,5 - 2,5)	1,8 (1,2 - 2,2)	0,26
Kolesterol	4,4 (3,3 - 4,8)	4,4 (4,2 - 5)	0,52
HDL-kolesterol	1,7 (1,6 - 1,8)	1,7 (1,6 - 2,1)	0,43
LDL-kolesterol	2,1 (1,5 - 2,8)	2,3 (1,8 - 2,8)	0,59
Trigliceridi	1,1 (0,9 - 1,4)	0,8 (0,7 - 1,2)	0,16

\*Mann Whitney U test

U 3. tromjesečju, kod ispitanica s visokim rizikom za GDM značajno su niže vrijednosti B-limfocita (%) CD19+CD5+ (ograda svi limfociti) (Mann Whitney U test,  $P = 0,04$ ) u odnosu na one koje imaju nizak rizik, dok u ostalim biokemijskim pokazateljima 3. tromjesečja nema značajnih razlika s obzirom na rizik GDM (Tablica 9, Tablica 10).

Tablica 9. Vrijednosti biokemijskih pokazatelja u 3. tromjesečju prema riziku za GDM (1/2)

	Medijan (interkvartilni raspon)		$P^*$
	Nizak rizik	Visok rizik	
Eritrociti	3,8 (3,7 - 4,1)	3,9 (3,8 - 4,2)	0,12
Hemoglobin	117 (112 - 126)	121 (113 - 129)	0,52
Trombociti	233 (157 - 306)	247 (204 - 260)	0,43
Leukociti	11,4 (9,3 - 13)	9,5 (8,2 - 11,3)	0,05
Neutrofili	73 (62 - 84)	71 (68 - 75)	0,38
Limfociti	22 (13 - 26)	22 (20 - 25)	0,52
Monociti	4 (3 - 6)	6 (5 - 6)	0,20
Eozinofili	1 (0 - 1)	1 (1 - 2)	0,06
Bazofili	0 (0 - 1)	0 (0 - 1)	0,90
Limfociti (%) ograda	16 (14 - 22)	16 (14 - 19)	0,95
T-limfociti (%) CD3+	79 (74,2 - 83)	78,3 (72 - 80,5)	0,48
Pomoćnički T-limfociti (%) CD3+CD4+	41,7 (39,8 - 50,4)	45,2 (38,2 - 48,1)	0,80
Citotoksični T-limfociti (%) CD3+CD8+	33 (28 - 35,3)	28,9 (27 - 33,8)	0,18
Pomoćnički/Citotoksični T-limfociti	1,3 (1 - 1,8)	1,6 (1,2 - 2)	0,40
NK-stanice (%) CD3-CD16+56+	10,6 (8,1 - 12,3)	12,4 (8,4 - 14,4)	0,17
NKT-stanice (%) CD3+CD16+56+	7,2 (6,2 - 10,9)	6 (4,4 - 9,2)	0,18
NK/NKT stanice	1,2 (0,6 - 2)	1,8 (0,9 - 3,4)	0,07
B-limfociti (%) CD19+CD20+	9 (7,4 - 14,3)	10,1 (6,3 - 11,7)	0,64
B-limfociti (%) CD19+CD5+ (ograda svi limfociti)	2,1 (1,7 - 3,2)	1,6 (0,9 - 2,2)	<b>0,04</b>
B-limfociti (%) CD5+ (ograda svi B-limfociti)	18,9 (15,8 - 28,4)	15,3 (12 - 21,4)	0,08
Glukoza	4,4 (4,3 - 4,7)	4,6 (4,4 - 4,9)	0,28
Inzulin	11,9 (7,6 - 17,8)	12 (9,6 - 17,6)	0,98
C-peptid	1,1 (0,6 - 1,3)	0,8 (0,7 - 1,2)	0,53
HOMA IR	2 (2 - 4)	2 (2 - 4)	0,93
HbA1c	36 (34 - 37)	37 (34 - 38)	0,78
CRP	4,4 (2,7 - 8,9)	3,2 (1,8 - 4,9)	0,11

\*Mann Whitney U test

Tablica 10. Vrijednosti biokemijskih pokazatelja u 3. tromjesečju prema riziku za GDM (2/2)

	Medijan (interkvartilni raspon)		<i>P</i> *
	Nizak rizik	Visok rizik	
IgG	9 (8 - 10,2)	8,3 (7,3 - 9,6)	0,46
IgM	1 (0,7 - 2)	1,1 (0,8 - 1,6)	0,91
IgA	1,7 (1 - 1,9)	1,7 (1,3 - 2,1)	0,62
Kolesterol	6,3 (5,8 - 7,8)	6,9 (6,5 - 7,9)	0,14
HDL-kolesterol	1,8 (1,8 - 2,1)	1,9 (1,6 - 2,4)	0,62
LDL-kolesterol	3,7 (2,7 - 5)	4,1 (3,6 - 5,3)	0,20
Trigliceridi	2,5 (2,1 - 3)	2,7 (2,1 - 3,1)	0,97

\*Mann Whitney U test

Žene koje su razvile u prvom tromjesečju GDM imaju značajno niže vrijednosti limfocita (%) ograda (Mann Whitney U test,  $P = 0,04$ ), inzulina (Mann Whitney U test,  $P = 0,02$ ) i HOMA IR (Mann Whitney U test,  $P = 0,02$ ) (Tablica 11 i Tablica 12).

Tablica 11. Vrijednosti biokemijskih pokazatelja u 1. tromjesečju prema skupinama s visokim rizikom za GDM i žena koje su razvile GDM (1/2)

	Medijan (interkvartilni raspon)		<i>P</i> *
	Visok rizik GDM	Razvile GDM	
Eritrociti	4,47 (4,22 - 4,62)	4,40 (4,1 - 4,7)	0,82
Hemoglobin	138,5 (132,75 - 142)	135 (128 - 137)	0,26
Trombociti	262 (208,75 - 301)	281 (259 - 290)	0,50
Leukociti	8,75 (7,23 - 10,05)	7,4 (6,3 - 13)	0,96
Neutrofili	70,5 (67,5 - 74)	73 (72 - 79)	0,34
Limfociti	22,5 (19,3 - 25)	20 (20 - 20)	0,24
Monociti	4 (3,3 - 5)	2 (1 - 5)	0,28
Eozinofili	1,5 (0,3 - 2)	3 (0 - 4)	0,30
Bazofili	0 (0 - 1)	0 (0 - 1)	0,74
Limfociti (%) ograda	17,5 (16,3 - 20)	15 (12 - 16)	<b>0,04</b>
T-limfociti (%) CD3+	74,5 (69,7 - 77,8)	74,6 (68,8 - 75,2)	0,62
Pomoćnički T-limfociti (%) CD3+CD4+	41,2 (36,7 - 46,2)	47,8 (41,6 - 47,9)	0,15
Citotoksični T-limfociti (%) CD3+CD8+	27,8 (25,4 - 31,1)	27,3 (21 - 28,2)	0,43

\*Mann Whitney U test

Tablica 12. Vrijednosti biokemijskih pokazatelja u 1. tromjesečju prema skupinama s visokim rizikom za GDM i žena koje su razvile GDM (2/2)

	Medijan (interkvartilni raspon)		P*
	Visok rizik GDM	Razvile GDM	
Pomoćnički/Citotoksični T-limfociti	1,5 (1,3 - 1,7)	1,8 (1,5 - 2,3)	0,18
NK-stanice (%) CD3-CD16+56+	15,3 (10,3 - 18,7)	14 (10,2 - 15,4)	0,43
NKT-stanice (%) CD3+CD16+56+	5,8 (4,3 - 9,9)	10,9 (1,6 - 12,4)	0,65
NK/NKT stanice	2,4 (1,4 - 3,3)	1,1 (0,9 - 9,6)	0,74
B-limfociti (%) CD19+CD20+	9,7 (7,7 - 12,2)	10,9 (6,9 - 12,2)	0,96
B-limfociti (%) CD19+CD5+ (ograda svi limfociti)	2,6 (2,1 - 4)	1,4 (1 - 2,4)	0,07
B-limfociti (%) CD5+ (ograda svi B-limfociti)	30,3 (23,2 - 37,9)	18,4 (9,2 - 34,8)	0,26
Glukoza	4,7 (4,4 - 5,1)	4,8 (4,7 - 4,9)	0,47
Inzulin	9,6 (7,7 - 13,5)	6,3 (3,8 - 6,7)	<b>0,02</b>
C-peptid	0,7 (0,6 - 0,8)	0,5 (0,3 - 0,6)	0,09
HOMA IR	2 (2 - 3)	1 (1 - 1)	<b>0,02</b>
HbA1c	34 (32,3 - 34,8)	31 (31 - 36)	0,49
CRP	2,8 (1,1 - 3,1)	15,6 (0,5 - 17,7)	0,26
IgG	10,5 (9,6 - 12,2)	11,4 (10,6 - 14,1)	0,34
IgM	1 (0,9 - 1,4)	1,6 (0,8 - 2,1)	0,47
IgA	1,8 (1,1 - 2,2)	1,4 (1,2 - 2,4)	0,82
Kolesterol	4,4 (4,2 - 4,9)	4,4 (3,1 - 5,4)	0,74
HDL-kolesterol	1,8 (1,6 - 2,1)	1,7 (1,6 - 1,7)	0,37
LDL-kolesterol	2,3 (1,9 - 2,7)	2,4 (1,4 - 3)	0,87
Trigliceridi	0,8 (0,7 - 1,2)	0,9 (0,7 - 1,5)	0,73

\*Mann Whitney U test

U 3. tromjesečju, nema značajnih razlika u biokemijskim pokazateljima između žena s visokim rizikom za GDM i onih koje su razvile GDM (Tablica 13).

Tablica 13. Vrijednosti biokemijskih pokazatelja u 3. tromjesečju prema skupinama s visokim rizikom za GDM i žena koje su razvile GDM

## 5. REZULTATI

	Medijan (interkvartilni raspon)		<i>P</i> *
	Visok rizik GDM	Razvile GDM	
Eritrociti	3,9 (3,8 - 4,3)	4,1 (3,9 - 4,2)	0,43
Hemoglobin	121 (115,5 - 128,5)	113 (103 - 130)	0,34
Trombociti	238 (203,3 - 257,8)	260 (222 - 325)	0,18
Leukociti	9,8 (8,7 - 11,4)	8,2 (7,7 - 9,8)	0,26
Neutrofili	71 (68 - 75,8)	68 (65 - 71)	0,26
Limfociti	21,5 (18,5 - 25)	24 (21 - 26)	0,37
Monociti	6 (4,3 - 6)	5 (5 - 7)	0,72
Eozinofili	1 (1 - 2)	3 (1 - 3)	0,18
Bazofili	0 (0 - 1)	0 (0 - 1)	0,84
Limfociti (%) ograda	15,5 (14 - 18,8)	19 (18 - 21)	0,15
T-limfociti (%) CD3+	78,5 (72,4 - 80,5)	77,2 (69,8 - 85,3)	0,91
Pomoćnički T-limfociti (%) CD3+CD4+	45,5 (38,1 - 48,1)	43,4 (43,2 - 50,1)	0,91
Citotoksični T-limfociti (%) CD3+CD8+	29,1 (27,1 - 33,9)	28,6 (17,7 - 33,8)	0,58
Pomoćnički/Citotoksični T-limfociti	1,6 (1,2 - 1,9)	1,8 (1,3 - 2,4)	0,26
NK-stanice (%) CD3-CD16+56+	11,7 (8,5 - 14,3)	13,3 (7,4 - 16,7)	>0,99
NKT-stanice (%) CD3+CD16+56+	5,9 (4,4 - 7,6)	11,3 (1,4 - 14,7)	0,54
NK/NKT stanice	2 (1,4 - 3,3)	0,9 (0,7 - 11,9)	0,74
B-limfociti (%) CD19+CD20+	10,3 (7,3 - 11,7)	6,3 (4,3 - 12,9)	0,37
B-limfociti (%) CD19+CD5+ (ograda svi limfociti)	1,7 (1 - 2,3)	0,9 (0,4 - 1,6)	0,10
B-limfociti (%) CD5+ (ograda svi B-limfociti)	17 (12,2 - 22,7)	12,4 (6,3 - 20,9)	0,29
Glukoza	4,7 (4,3 - 5)	4,4 (4,4 - 4,9)	0,74
Inzulin	11,1 (8,5 - 17,4)	12,9 (11,8 - 17,9)	0,43
C-peptid	0,8 (0,7 - 1,1)	0,8 (0,7 - 1,3)	0,62
HOMA IR	2 (2 - 4)	3 (2 - 4)	0,56
HbA1c	37 (34 - 38)	35 (33 - 40)	0,91
CRP	3,1 (1,7 - 4,9)	3,2 (3 - 3,8)	0,74
IgG	8,1 (7,3 - 9,1)	9,6 (8,2 - 11,8)	0,18
IgM	1,1 (0,8 - 1,4)	1,7 (0,9 - 2)	0,26
IgA	1,8 (1,3 - 2,1)	1,4 (1,1 - 2,6)	0,66
Kolesterol	7,2 (6,3 - 8)	6,9 (6,5 - 7,3)	0,65
HDL-kolesterol	2,1 (1,6 - 2,6)	1,7 (1,6 - 2)	0,47
LDL-kolesterol	4,4 (3,5 - 5,5)	4,1 (3,9 - 4,3)	0,78
Trigliceridi	2,6 (2,1 - 3)	3,5 (2,3 - 3,9)	0,20

\*Mann Whitney U test



Žene koje su razvile GDM u prvom tromjesečju imaju značajno niže vrijednosti B-limfocita (%) CD19+CD5+ (ograda svi limfociti) (Mann Whitney U test,  $P = 0,04$ ), dok u ostalim varijablama nema značajnih razlika između skupina (Tablica 14 i Tablica 15).

Tablica 14. Vrijednosti biokemijskih pokazatelja u 1. tromjesečju prema skupinama s niskim rizikom za GDM i žena koje su razvile GDM (1/2)

	Medijan (interkvartilni raspon)		$P^*$
	Nizak rizik GDM	Razvile GDM	
Eritrociti	4,17 (4,03 - 4,53)	4,40 (4,1 - 4,7)	0,53
Hemoglobin	130 (123 - 131)	135 (128 - 137)	0,31
Trombociti	222 (178 - 256)	281 (259 - 290)	0,05
Leukociti	8,7 (7,7 - 9,5)	7,4 (6,3 - 13)	0,82
Neutrofili	69 (66 - 78)	73 (72 - 79)	0,21
Limfociti	23 (20 - 28)	20 (20 - 20)	0,09
Monociti	4 (2 - 6)	2 (1 - 5)	0,31
Eozinofili	2 (1 - 2)	3 (0 - 4)	0,33
Bazofili	0 (0 - 0)	0 (0 - 1)	0,59
Limfociti (%) ograda	16 (13 - 23)	15 (12 - 16)	0,39
T-limfociti (%) CD3+	75,6 (73,4 - 77,7)	74,6 (68,8 - 75,2)	0,18
Pomoćnički T-limfociti (%) CD3+CD4+	39,2 (36,6 - 45,1)	47,8 (41,6 - 47,9)	0,24
Citotoksični T-limfociti (%) CD3+CD8+	32,7 (23,6 - 38,6)	27,3 (21 - 28,2)	0,24
Pomoćnički/Citotoksični T-limfociti	1,1 (0,9 - 2)	1,8 (1,5 - 2,3)	0,19
NK-stanice (%) CD3-CD16+56+	12,4 (9,5 - 14,2)	14 (10,2 - 15,4)	0,59
NKT-stanice (%) CD3+CD16+56+	7,5 (5,4 - 14,2)	10,9 (1,6 - 12,4)	0,82
NK/NKT stanice	1,1 (0,8 - 2,8)	1,1 (0,9 - 9,6)	0,70
B-limfociti (%) CD19+CD20+	11,3 (8,3 - 13)	10,9 (6,9 - 12,2)	0,59
B-limfociti (%) CD19+CD5+ (ograda svi limfociti)	3,1 (2,1 - 4)	1,4 (1 - 2,4)	<b>0,04</b>
B-limfociti (%) CD5+ (ograda svi B-limfociti)	27,3 (20,8 - 35,3)	18,4 (9,2 - 34,8)	0,31
Glukoza	4,5 (4,3 - 4,8)	4,8 (4,7 - 4,9)	0,24
Inzulin	8,4 (4,4 - 10)	6,3 (3,8 - 6,7)	0,10
C-peptid	0,5 (0,5 - 0,7)	0,5 (0,3 - 0,6)	0,70
HOMA IR	2 (1 - 2)	1 (1 - 1)	0,07
HbA1c	34 (33 - 37)	31 (31 - 36)	0,13
CRP	5 (3,6 - 8,4)	15,6 (0,5 - 17,7)	0,39

\*Mann Whitney U test

Tablica 15. Vrijednosti biokemijskih pokazatelja u 1. tromjesečju prema skupinama s niskim rizikom za GDM i žena koje su razvile GDM (2/2)

	Medijan (interkvartilni raspon)		<i>P</i> *
	Nizak rizik GDM	Razvile GDM	
IgG	11,7 (10,6 - 12,2)	11,4 (10,6 - 14,1)	0,88
IgM	1 (0,8 - 1,4)	1,6 (0,8 - 2,1)	0,59
IgA	2,1 (1,5 - 2,5)	1,4 (1,2 - 2,4)	0,31
Kolesterol	4,4 (3,3 - 4,8)	4,4 (3,1 - 5,4)	0,94
HDL-kolesterol	1,7 (1,6 - 1,8)	1,7 (1,6 - 1,7)	0,87
LDL-kolesterol	2,1 (1,5 - 2,8)	2,4 (1,4 - 3)	0,88
Trigliceridi	1,1 (0,9 - 1,4)	0,9 (0,7 - 1,5)	0,64

\*Mann Whitney U test

U 3. tromjesečju, nema značajnih razlika u biokemijskim pokazateljima između žena s niskim rizikom za GDM i onih koje su razvile GDM, osim u slučaju B-limfocita (%) CD19+CD5+ (ograda svi limfociti) gdje žene s GDM-om u trudnoći imaju značajno niže vrijednosti u odnosu na žene s niskim rizikom (Mann Whitney U test,  $P = 0,03$ ) (Tablica 16, Tablica 17).

Tablica 16. Vrijednosti biokemijskih pokazatelja u 3. tromjesečju prema skupinama s niskim rizikom za GDM i žena koje su razvile GDM (1/2)

	Medijan (interkvartilni raspon)		<i>P</i> *
	Nizak rizik GDM	Razvile GDM	
Eritrociti	3,8 (3,7 - 4,1)	4,1 (3,9 - 4,2)	0,16
Hemoglobin	117 (112 - 126)	113 (103 - 130)	0,59
Trombociti	233 (157 - 306)	260 (222 - 325)	0,31
Leukociti	11,4 (9,3 - 13)	8,2 (7,7 - 9,8)	0,07
Neutrofili	73 (62 - 84)	68 (65 - 71)	0,35
Limfociti	22 (13 - 26)	24 (21 - 26)	0,44
Monociti	4 (3 - 6)	5 (5 - 7)	0,31
Eozinofili	1 (0 - 1)	3 (1 - 3)	0,07
Bazofili	0 (0 - 1)	0 (0 - 1)	0,93
Limfociti (%) ograda	16 (14 - 22)	19 (18 - 21)	0,39

\*Mann Whitney U test

Tablica 17. Vrijednosti biokemijskih pokazatelja u 3. tromjesečju prema skupinama s niskim rizikom za GDM i žena koje su razvile GDM (2/2)

	Medijan (interkvartilni raspon)		P*
	Nizak rizik GDM	Razvile GDM	
T-limfociti (%) CD3+	79 (74,2 - 83)	77,2 (69,8 - 85,3)	0,70
Pomoćnički T-limfociti (%) CD3+CD4+	41,7 (39,8 - 50,4)	43,4 (43,2 - 50,1)	0,39
Citotoksični T-limfociti (%) CD3+CD8+	33 (28 - 35,3)	28,6 (17,7 - 33,8)	0,30
Pomoćnički/Citotoksični T-limfociti	1,3 (1 - 1,8)	1,8 (1,3 - 2,4)	0,31
NK-stanice (%) CD3-CD16+56+	10,6 (8,1 - 12,3)	13,3 (7,4 - 16,7)	0,31
NKT-stanice (%) CD3+CD16+56+	7,2 (6,2 - 10,9)	11,3 (1,4 - 14,7)	0,82
NK/NKT stanice	1,2 (0,6 - 2)	0,9 (0,7 - 11,9)	0,82
B-limfociti (%) CD19+CD20+	9 (7,4 - 14,3)	6,3 (4,3 - 12,9)	0,24
B-limfociti (%) CD19+CD5+ (ograda svi limfociti)	2,1 (1,7 - 3,2)	0,9 (0,4 - 1,6)	<b>0,03</b>
B-limfociti (%) CD5+ (ograda svi B-limfociti)	18,9 (15,8 - 28,4)	12,4 (6,3 - 20,9)	0,14
Glukoza	4,4 (4,3 - 4,7)	4,4 (4,4 - 4,9)	0,53
Inzulin	11,9 (7,6 - 17,8)	12,9 (11,8 - 17,9)	0,59
C-peptid	1,1 (0,6 - 1,3)	0,8 (0,7 - 1,3)	0,94
HOMA IR	2 (2 - 4)	3 (2 - 4)	0,62
HbA1c	36 (34 - 37)	35 (33 - 40)	0,88
CRP	4,4 (2,7 - 8,9)	3,2 (3 - 3,8)	0,44
IgG	9 (8 - 10,2)	9,6 (8,2 - 11,8)	0,49
IgM	1 (0,7 - 2)	1,7 (0,9 - 2)	0,49
IgA	1,7 (1 - 1,9)	1,4 (1,1 - 2,6)	0,82
Kolesterol	6,3 (5,8 - 7,8)	6,9 (6,5 - 7,3)	0,35
HDL-kolesterol	1,8 (1,8 - 2,1)	1,7 (1,6 - 2)	0,43
LDL-kolesterol	3,7 (2,7 - 5)	4,1 (3,9 - 4,3)	0,44
Trigliceridi	2,5 (2,1 - 3)	3,5 (2,3 - 3,9)	0,39

\*Mann Whitney U test

Spearmanovim koeficijentom korelacije ocijenili smo povezanost vrijednosti hemoglobina i HbA1c, u prvom i u trećem tromjesečju, i uočavamo da nema značajne povezanosti hemoglobina s vrijednostima HbA1c u 1. i u 3. tromjesečju (Tablica 18).

Tablica 18. Povezanost HbA1c i vrijednosti hemoglobina u 1. i u 3. tromjesečju (Spearmanov koeficijent korelacije)

	Spearmanov koeficijent korelacije Rho ( <i>P</i> vrijednost) HbA1c
1. tromjesečje - hemoglobin	0,017 (0,93)
3. tromjesečje - hemoglobin	-0,004 (0,98)

## 6. RASPRAVA

Provedena je prospektivna kohortna studija između 30 trudnica. Trudnicama je uzorkovana periferna venska krv za analizu pokazatelja specifičnih za gestacijski dijabetes tijekom prvog i trećeg tromjesečja trudnoće. Prema rezultatima upitnika koji su trudnice popunile, svrstane su u kategoriju trudnica s niskim rizikom za razvoj gestacijskog dijabetesa ili onu s visokim rizikom za razvoj gestacijskog dijabetesa. Istraživanje je potvrdilo da postoje značajne razlike u pojedinim biokemijskim pokazateljima između niskokorizičnih, visokorizičnih i dijabetičnih trudnica u pojedinim tromjesečjima. Broj eritrocita je unutar referentnog intervala za prvo tromjesečje trudnoće i u visokorizičnoj i u niskorizičnoj skupini za razvoj gestacijskog dijabetesa. Neka istraživanja tvrde da je broj eritrocita povišen u skupini dijabetičnih trudnica (33). S druge strane, koncentracija hemoglobina značajno je viša u visokorizičnoj grupi u usporedbi s niskorizičnom tijekom prvog tromjesečja, iako su obje vrijednosti unutar referentnih granica. Sissala i sur. utvrdili su da su više razine hemoglobina u majke, a unutar referentnog raspona neovisni faktor rizika za GDM, ali i da navedeno ima mali učinak na perinatalni ishod (48). Mehrabian i Hosseini utvrdili su da je visok hemoglobin u prvom tromjesečju povezan s većim rizikom od preeklampsije i GDM-a (49). Trombociti su unutar referentnog intervala u obje grupe, ali su nešto viši u visokorizičnoj grupi. Yang i suradnici tvrde da dijabetične trudnice imaju više razine trombocita dok Huang i suradnici tvrde da broj trombocita i volumen distribucije trombocita nisu u korelaciji s GDM-om (33, 50). Leukociti su također u granicama referentnog raspona, ali su nešto viši u niskorizičnoj grupi. Lyu i sur. tvrde da povećani eritrociti i hemoglobin, trombociti, leukociti s limfocitima i neutrofilima u prvom tromjesečju imaju značajnu povezanost s GDM-om u prvom tromjesečju (51). Neutrofili su povišeni u obje skupine izvan referentnih vrijednosti za 1. tromjesečje, a njihov rast veći je u visokorizičnoj grupi. Limfociti su također povišeni u obje grupe iznad referentnih vrijednosti, a njihov je rast izraženiji u niskorizičnoj skupini. Monociti i eozinofili povišeni su obje grupe i iznad referentnog intervala u prvom tromjesečju. Huang i sur. tvrde da je broj monocita snižen u dijabetičarki od početka trudnoće pa sve do termina poroda (52), ali naši rezultati pokazuju suprotno i u skladu su s istraživanjem Yanga i sur. koji tvrde da su monociti povišeni u dijabetičnih trudnica (33). Druge studije tvrde da se kao biomarker u GDM-u može koristiti omjer neutrofila i limfocita te omjer monocita i limfocita (53, 36). Bazofili su unutar referentnog intervala u obje skupine. Analizom limfocitnih subpopulacija protočnom citometrijom utvrđeno je da je postotak limfocita nešto veći u visokorizičnih

trudnica u odnosu na niskorizične. T-limfociti (CD3+) i citotoksični T-limfociti (CD3+CD8+) sniženi su u visokorizičnoj grupi u komparaciji s niskorizičnom grupom u prvom tromjesečju. Pomoćnički T-limfociti (CD3+CD4+) te omjer pomoćničkih i citotoksičnih limfocita povišeni su u visokorizičnoj grupi u odnosu na niskorizičnu grupu. Druge studije pokazale su da su u GDM-u koncentracije T-stanica (CD3+), T-pomoćnih stanica (CD3+CD4+) i citotoksičnih T-stanica (CD3+CD8+) povišene u usporedbi sa zdravim osobama (54, 55, 56). NK stanice (CD3-CD16+CD56+) povišene su u visokorizičnoj skupini, a NKT stanice (CD3+CD16+CD56+) u niskorizičnoj skupini. De Castro Pernet Hara i sur. tvrde da broj NK stanica opada, a NKT stanica raste u skupini trudnica s GDM-om što je u suprotnosti s našim rezultatima (57). Omjer NK/NKT stanica povišen je u visokorizičnoj grupi u komparaciji s niskorizičnom. B-limfociti subpopulacije (CD19+CD20+) i (CD19+CD5+) sniženi su u visokorizičnoj grupi dok je (CD5+) subpopulacija povišena u visokorizičnoj skupini. (CD5+) B-stanice obično su povišene u stanju kronične limfocitne leukemije, ali određeni broj B-stanica može ih imati eksprimirane u normalnim okolnostima. CD5 je inhibitorni receptor koji smanjuje BCR-signaliziranje i autoimuni odgovor na vlastite antigene što je potrebno za pozitivnu selekciju u koštanoj srži. U visokorizičnoj grupi povišeni su glukoza, inzulin i C-peptid dok je mjera inzulinske rezistencije, HOMA-IR, granično uredna u obje grupe. HbA1c uredan je u obje ispitivane skupine. CRP je statistički značajno niži u visokorizičnoj grupi u usporedbi s niskorizičnom. Imunoglobulini G, M i A uredni su u obje grupe, ali su IgG i IgA nešto viši u niskorizičnoj grupi. Jedna studija pokazala je da je IgA povišen u trudnica s GDM-om (43). Ukupni kolesterol, HDL, LDL i ukupni trigliceridi uredni su u obje grupe. LDL ima nešto veću koncentraciju u visokorizičnoj grupi dok su trigliceridi sniženi u istoj grupi. Istraživanje Rahnemaeija i sur. utvrdilo je da dijabetične trudnice imaju više razine ukupnog kolesterola, LDL-a, VLDL-a, omjer triglicerida i HDL-a, a niži HDL (58). Između populacija trudnica s niskim rizikom za razvoj dijabetesa i onih s visokim rizikom tijekom prvog tromjesečja, statistički značajna razlika u pokazateljima dobivena je u koncentracijama hemoglobina i CRP-a. Oba pokazatelja su nespecifična za GDM. Na koncentraciju hemoglobina mogu utjecati upalna stanja. CRP je normalno povećan u trudnoći, a u dijabetičarki je taj porast još veći. Neke studije nisu prijavile povezanost CRP-a i GDM-a (31), a kada se uzme u obzir i BMI, ta veza dodatno slabi ili nestaje (59). Tijekom trećeg tromjesečja razlika između visokorizičnih i niskorizičnih trudnica vidljiva je u broju eritrocita. Oni su unutar referentnog intervala za 3. tromjesečje u obje skupine, ali su nešto viši u populaciji visokorizičnih trudnica. Također su sniženi u obje grupe u odnosu na 1. tromjesečje. Napredovanjem trudnoće dolazi do fiziološke hemodilucije jer volumen plazme

raste brže od stanične komponente krvi s obzirom na to da estrogene i aldosteron koji se pojačano luče izazivaju retenciju tekućine. Hemoglobin je unutar referentnih vrijednosti u obje grupe, a malo viši u visokorizičnih trudnica. Smanjen je u obje skupine u odnosu na 1. tromjesečje. Trombociti su unutar intervala, ali nešto viši u visokorizičnih trudnica. S obzirom na 1. tromjesečje, u visokorizičnih trudnica dolazi do njihovog snižavanja, a u niskorizičnih trudnica do njihova porasta u 3. tromjesečju. Fluktuacije u pojedinim krvnim lozama normalne su tijekom trudnoće. Leukociti su unutar intervala, iako bilježe porast u obje grupe tijekom 3. tromjesečja, a nešto su veći u niskorizičnih trudnica u 3. tromjesečju što je normalno. Neutrofili, limfociti i monociti nalaze se izvan granica referentnih vrijednosti i povišeni su u obje ispitivane skupine. Neutrofili bilježe porast u niskorizičnih i pad u visokorizičnih trudnica u odnosu na 1. tromjesečje. Limfociti u niskorizičnih trudnica padaju, a ostaju isti u visokorizičnih trudnica u odnosu na 1. tromjesečje. Monociti ostaju na istoj razini u niskorizičnih trudnica, a u visokorizičnoj skupini rastu u odnosu na 1. tromjesečje. Eozinofili su unutar referentnih vrijednosti, a sniženi su u obje grupe u odnosu na 1. tromjesečje dok su bazofili nepromijenjeni. Postotak limfocita isti je u obje ispitivane skupine u 3. tromjesečju, a bilježi se njihov pad u obje skupine u odnosu na 1. tromjesečje. T-limfociti (CD3+) sniženi su u visokorizičnoj grupi u 3. tromjesečju, a vidljiv je i pad u obje grupe u odnosu na 1. tromjesečje. Pomoćnički T-limfociti (CD3+CD4+) rastu u visokorizičnoj grupi u 3. tromjesečju, a vidljiv je porast u obje grupe u odnosu na 1. tromjesečje. Isto potvrđuje i istraživanje Sifnaiosa i suradnika (39). Citotoksični T-limfociti (CD3+CD8+) sniženi su u visokorizičnoj grupi u usporedbi s niskorizičnom, a također blago rastu u obje grupe u odnosu na 1. tromjesečje. Rast pomoćničkih i pad citotoksičnih T-limfocita tijekom 3. tromjesečja potvrđen je u još nekoliko studija (60, 61). Omjer pomoćničkih i citotoksičnih T-stanica povišen je u visokorizičnih trudnica u 3. tromjesečju uz porast u obje grupe u odnosu na 1. tromjesečje. NK stanice (CD3-CD16+CD56+) povišene su u visokorizičnih trudnica u 3. tromjesečju, a vidljiv je pad u odnosu na 1. tromjesečje. NKT stanice (CD3+CD16+CD56+) snižene su u 3. tromjesečju u visokorizičnih trudnica. U odnosu na 1. tromjesečje, dolazi do njihovog pada u niskorizičnih trudnica i porasta u visokorizičnih trudnica. Omjer NK/NKT stanica povišen je u visokorizičnih u 3. tromjesečju. U odnosu na 1. tromjesečje, omjer u niskorizičnih trudnica raste, a u visokorizičnih pada. B-limfociti (CD19+CD20+) povišeni su u visokorizičnoj grupi u 3. tromjesečju u odnosu na niskorizičnu. U odnosu na 1. tromjesečje, oni padaju u niskorizičnoj grupi i rastu u visokorizičnoj. Druge studije također tvrde da u dijabetičnih trudnica dolazi do porasta B-limfocita u odnosu na trudnice bez gestacijskog dijabetesa (62, 63). B-limfociti (CD19+CD5+) imaju statistički značajnu razliku između

visokorizičnih i niskorizičnih trudnica u 3. tromjesečju. Sniženi su u visokorizičnih trudnica u 3. tromjesečju, a u odnosu na 1. tromjesečje dolazi do njihovog pada u obje skupine. B-limfociti (CD5+) niži su u visokorizičnih trudnica u 3. tromjesečju, a u odnosu na 1. tromjesečje bilježi se njihov pad u obje ispitivane skupine. Glukoza i inzulin povišeni su u obje grupe trudnica u 3. tromjesečju što odgovara teoriji inzulinske rezistencije koja se razvija između 2. i 3. tromjesečja, a kompenzatorno gušterača odgovara hiperinzulinemijom. U odnosu na 1. tromjesečje, glukoza blago pada, a inzulin raste. C-peptid je snižen u visokorizičnoj grupi u 3. tromjesečju u usporedbi s niskorizičnom grupom, a u odnosu na 1. tromjesečje je povišen u obje grupe. HOMA-IR je granično uredna u obje grupe. HbA1c raste u obje grupe tijekom 3. tromjesečja, a bilježi se veći porast u visokorizičnoj grupi u odnosu na 1. tromjesečje. CRP pada u niskorizičnoj grupi i raste u visokorizičnoj u odnosu na 1. tromjesečje. U 3. tromjesečju CRP je viši u niskorizičnoj grupi. IgG je malo veći u niskorizičnih trudnica u 3. tromjesečju, a bilježi se njegov pad u obje grupe u odnosu na 1. tromjesečje. IgM raste u visokorizičnih u 3. tromjesečju u odnosu na 1. tromjesečje. IgA pada u obje grupe u odnosu na 1. tromjesečje. Kolesterol, HDL, LDL i trigliceridi nalaze se u referentnom rasponu. Sva tri pokazatelja rastu u 3. tromjesečju u trudnica s visokim rizikom u odnosu na niskorizične i u odnosu na 1. tromjesečje. Između populacija trudnica s niskim rizikom za razvoj dijabetesa i onih s visokim rizikom tijekom 3. tromjesečja, statistički značajna razlika u pokazateljima dobivena je u B-limfocitima (CD19+CD5+) što može biti predmetom daljnjih istraživanja. Pri usporedbi pokazatelja u 1. tromjesečju između trudnica s visokim rizikom i onih koje su zaista razvile gestacijski dijabetes među njima utvrđeno je da trudnice dijabetičarke imaju niže vrijednosti eritrocita i hemoglobina u odnosu na visokorizične trudnice, ali i dalje u referentnom intervalu. Ovo je u suprotnosti s ranijim istraživanjima jer se smatra kako dijabetičarke obično imaju povećani broj eritrocita (33). Trombociti su povišeni u dijabetičarki, ali i dalje u intervalu. Leukociti su povišeni u visokorizičnih pacijentica jer njihov broj raste kako trudnoća napreduje. Neutrofili, limfociti, monociti i eozinofili bilježe rast u obje ispitivane skupine. Neutrofili i eozinofili rastu u dijabetičarki, a limfociti i monociti u visokorizičnih trudnica. Bazofili su unutar referentnog intervala u obje grupe. Postotak limfocita veći je u visokorizičnih trudnica sa statistički značajnom razlikom između ispitivanih skupina. T-limfociti (CD3+) i pomoćnički T-limfociti (CD3+CD4+) povišeni su u dijabetičarki dok su citotoksični T-limfociti (CD3+CD8+) povišeni u visokorizičnih trudnica. Smatra se kako u gestacijskom dijabetesu dolazi do neravnoteže između proupalnog (Th1, Th17 stanice – subpopulacija CD4+) i protuupalnog odgovora (Th2, Treg stanice – luče protuupalne citokine) (64). Omjer pomoćničkih i



citotoksičnih T-stanica povišen je u dijabetičarki. NK stanice (CD3-CD16+CD56+) bilježe porast u visokorizičnoj grupi dok NKT stanice (CD3+CD16+CD56+) rastu u dijabetičarki. Omjer NK i NKT stanica povišen je u visokorizičnoj skupini. B-limfociti (CD19+CD20+) povećani su u dijabetičarki dok su B-limfociti (CD19+CD5+ i CD5+) povišeni u visokorizičnih pacijentica. Glukoza je povišena u dijabetičarki tijekom 1. tromjesečja u odnosu na visokorizične pacijentice. Inzulin je snižen u dijabetičarki uz statistički značajnu razliku između ispitivanih skupina. C-peptid i HbA1c povišeni su u visokorizičnih trudnica. HOMA-IR povišena je u visokorizičnih trudnica, a snižena u dijabetičarki uz statistički značajnu razliku. CRP izrazito raste u skupini dijabetičarki u usporedbi s visokorizičnim trudnicama. IgG i IgM povišeni su u dijabetičarki dok IgA raste u visokorizičnih trudnica. IgA u dijabetičkih trudnica tijekom rane faze trudnoće obično je niži u odnosu na zdrave kontrole što bi moglo biti uzrokovano različitim funkcijskim promjenama B-stanica u različitim fazama trudnoće (65). Kolesterol je unutar referentnih vrijednosti u obje grupe, HDL je povišen u visokorizičnoj grupi, a LDL i trigliceridi u dijabetičarki. Lin i sur. pokazali su da je omjer triglicerida i HDL-a dobar marker za inzulinsku rezistenciju i posljedični razvoj GDM-a (66). Između populacija trudnica s visokim rizikom za razvoj dijabetesa i onih koje su uistinu razvile gestacijski dijabetes tijekom 1. tromjesečja, statistički značajna razlika u pokazateljima dobivena je u postotku limfocita, koncentraciji inzulina i HOMA-IR. Kao biomarker u GDM-u čini se moguće koristiti omjer neutrofila i limfocita te omjer monocita i limfocita sukladno drugim istraživanjima, ali samo postotak limfocita ne jer je nespecifičan (53, 36). Postoje naznake da je inzulin dobar prediktor GDM-a jer pokazuje dobru osjetljivost i specifičnost (67, 68), ali u našoj studiji to nismo dokazali. Za HOMA-IR postoje kontradiktorni rezultati. Neke studije tvrde da je dobar prediktor inzulinske rezistencije (30), a neke tvrde da nije (46, 69). Niti jedan od parametara nije dovoljno specifičan za GDM. Tijekom 3. tromjesečja između visokorizičnih trudnica za gestacijski dijabetes i onih koje su ga razvile tijekom trudnoće utvrdili smo da, iako su eritrociti u referentnom intervalu, oni su viši u dijabetičarki. U odnosu na 1. tromjesečje, vidljiv je pad broja eritrocita u obje ispitivane skupine. Hemoglobin je viši u visokorizičnih trudnica tijekom 3. tromjesečja, a primjetan je pad u odnosu na 1. tromjesečje u obje grupe. Trombociti su viši u dijabetičarki tijekom 3. tromjesečja u odnosu na visokorizične trudnice, a vidi se i njihov pad u obje grupe u odnosu na 1. tromjesečje. Leukociti su viši u visokorizičnih trudnica tijekom 3. tromjesečja, a rastu od prvog tromjesečja u obje grupe. Neutrofilu su viši u visokorizičnih trudnica i izvan su referentnih vrijednosti. U odnosu na 1. tromjesečje, primjetan je blagi rast u visokorizičnih trudnica i njihov pad u dijabetičarki. Limfociti su povišeni u dijabetičarki tijekom 3.

tromjesečja, izvan su referentnog raspona, a također bilježe blagi porast u visokorizičnih i pad u dijabetičnih trudnica u odnosu na 1. tromjesečje. Monociti su povišeni u visokorizičnih trudnica tijekom 3. tromjesečja, a sniženi u obje grupe u odnosu na 1. tromjesečje. Rezultate za neutrofile, limfocite i monocite također potvrđuje studija Zhanga i suradnika (70). Eozinofili su povećani u dijabetičarki u 3. tromjesečju. U odnosu na 1. tromjesečje, bilježi se pad njihova broja u visokorizičnih trudnica, a u dijabetičarki nije bilo promjena njihova broja. U bazofilima nema promjena niti između grupa u 3. tromjesečju niti u odnosu na 1. tromjesečje. Postotak limfocita veći je u dijabetičarki u 3. tromjesečju. U odnosu na 1. tromjesečje, primjetan je pad u visokorizičnih i porast u dijabetičnih trudnica. T-limfociti (CD3+) viši su u visokorizičnih trudnica u 3. tromjesečju, a njihov rast je stalan između 1. i 3. tromjesečja u obje ispitivane skupine. Pomoćnički T-limfociti (CD3+CD4+) povišeni su u visokorizičnih trudnica u 3. tromjesečju, a u odnosu na 1. tromjesečje također rastu kod visokorizičnih, a kod dijabetičarki padaju. Citotoksični T-limfociti (CD3+CD8+) povišeni su u visokorizičnih trudnica u odnosu na dijabetičarke. U odnosu na 1. tromjesečje, rastu u obje ispitivane grupe. Omjer pomoćničkih i citotoksičnih T-limfocita veći je u dijabetičarki. Kod visokorizičnih trudnica primjetan je rast omjera, a kod dijabetičarki nema promjena u odnosu na 1. tromjesečje. NK stanice (CD3-CD16+CD56+) rastu u dijabetičarki u 3. tromjesečju u odnosu na visokorizičnu grupu. U odnosu na 1. tromjesečje, padaju u obje skupine. NKT stanice (CD3+CD16+CD56+) više su u dijabetičnoj skupini u 3. tromjesečju. U odnosu na 1. tromjesečje zamjetan je blagi porast. Aktivacija ovih stanica tijekom 3. tromjesečja rezultira pojačanim stvaranjem protuupalnih citokina poput IL-4 (71). Omjer NK i NKT stanica povišen je u visokorizičnih trudnica u 3. tromjesečju, a u odnosu na 1. tromjesečje opada u obje grupe. B-limfociti (CD19+CD20+) viši su u visokorizičnoj grupi u 3. tromjesečju, a u odnosu na 1. tromjesečje bilježi se rast u visokorizičnoj grupi i pad u skupini dijabetičarki. B-limfociti (CD19+CD5+ i CD5+) povišeni su u visokorizičnoj grupi u 3. tromjesečju, a u odnosu na 1. tromjesečje bilježi se pad u obje grupe. Glukoza je viša u visokorizičnoj grupi nego u dijabetičarki tijekom 3. tromjesečja. U odnosu na 1. tromjesečje, ostala je na istoj razini u visokorizičnoj grupi, a pada u skupini dijabetičarki. Inzulin je viši u dijabetičarki, a raste od 1. do 3. tromjesečja u obje grupe. U C-peptidu nema razlika između dvije grupe u 3. tromjesečju, ali su vrijednosti više u odnosu na 1. tromjesečje zbog napredovanja trudnoće. HOMA-IR povišen je u dijabetičarki u 3. tromjesečju. Vrijednost indeksa preko 2 predstavlja inzulinsku rezistenciju, a vrijeme pojave slaže se s vremenom pojave GDM-a. U odnosu na 1. tromjesečje, u visokorizičnih trudnica nije bilo promjene, a u dijabetičarki je vidljiv porast. HbA1c viši je u visokorizičnih trudnica u 3. tromjesečju, a u odnosu na 1. tromjesečje raste u

obje grupe. CRP je viši u dijabetičarki u 3. tromjesečju, a u odnosu na 1. tromjesečje raste u visokorizičnoj grupi i pada u dijabetičnoj grupi. IgG je povećan u dijabetičarki u 3. tromjesečju, a smanjuje se u obje grupe u odnosu na 1. tromjesečje. IgM raste u dijabetičarki u 3. tromjesečju, a u odnosu na 1. tromjesečje blago raste u obje grupe. IgA viši je u visokorizičnoj grupi u 3. tromjesečju, a stanje je nepromijenjeno u odnosu na 1. tromjesečje. Kolesterol, HDL i LDL viši su u visokorizičnih trudnica u 3. tromjesečju. Kolesterol i LDL rastu u obje skupine u odnosu na 1. tromjesečje. HDL raste u visokorizičnoj grupi te ostaje na istim razinama u dijabetičnoj grupi u odnosu na 1. tromjesečje. Trigliceridi su viši u skupini s dijabetesom i rastu u obje skupine s obzirom na 1. tromjesečje. Između populacija trudnica s visokim rizikom za razvoj dijabetesa i onih koje su uistinu razvile gestacijski dijabetes tijekom 3. tromjesečja, statistički značajna razlika u pokazateljima nije dobivena. U sklopu istraživanja utvrđeno je da vrijednosti hemoglobina i njegovog glikoziliranog pokazatelja, HbA1c, u 1. i 3. tromjesečju trudnoće nisu značajnije međusobno povezani. Ova studija potvrdila je da u određenim biokemijskim pokazateljima postoje razlike između niskorizičnih i visokorizičnih skupina za razvoj gestacijskog dijabetesa te skupine koja je uistinu i razvila gestacijski dijabetes prema tromjesečjima trudnoće. Neki rezultati kontradiktorni su ranije provedenim studijama koja su uključivala značajno veći broj ispitanika od ove studije. Pokazatelji među kojima postoji statistički značajna razlika uglavnom su nespecifični ili nedovoljno osjetljivi kako bi bili dovoljno dobar rani biomarker gestacijskog dijabetesa. Između populacija trudnica s niskim rizikom za razvoj dijabetesa i onih s visokim rizikom tijekom 1. tromjesečja, statistički značajna razlika u pokazateljima dobivena je u koncentracijama hemoglobina i CRP-a. Oba pokazatelja su nespecifična za GDM. Na koncentraciju hemoglobina mogu utjecati upalna stanja. CRP je normalno povećan u trudnoći, a u dijabetičarki je taj porast još veći. Neke studije nisu prijavile povezanost CRP-a i GDM-a, a kada se uzme u obzir i BMI, ta veza dodatno slabi ili nestaje. Između populacija trudnica s niskim rizikom za razvoj dijabetesa i onih s visokim rizikom tijekom 3. tromjesečja, statistički značajna razlika u pokazateljima dobivena je u B-limfocitima (CD19+CD5+). U komparaciji niskorizičnih trudnica i onih koje su uistinu razvile GDM, utvrđeno je da dijabetične trudnice imaju značajnu nižu koncentraciju cirkulirajućih B-limfocita subpopulacije (CD19+CD5+) tijekom 1. i tijekom 3. tromjesečja trudnoće. S obzirom na to da se limfocitne populacije određuju osjetljivom i specifičnom metodom protočne citometrije, smatram kako su ove stanice mogući dobar prediktor GDM-a u trudnica. Potrebno je provesti novu studiju s uključenim većim brojem ispitanica kako bi se navedeno potvrdilo. Između populacija trudnica s visokim rizikom za razvoj dijabetesa i onih koje su uistinu razvile gestacijski

dijabetes tijekom 1. tromjesečja, statistički značajna razlika u pokazateljima dobivena je u postotku limfocita, koncentraciji inzulina i HOMA-IR. Kao biomarker u GDM-u čini se moguće koristiti omjer neutrofila i limfocita te omjer monocita i limfocita sukladno drugim istraživanjima. Postoje naznake da je inzulin dobar prediktor GDM-a jer pokazuje dobru osjetljivost i specifičnost, ali u našoj studiji to nismo dokazali. Za HOMA-IR postoje kontradiktorni rezultati. Neke studije tvrde da je dobar prediktor inzulinske rezistencije, a neke tvrde da nije. Glavno ograničenje ove studije je relativno mali broj ispitanika od 30 ispitanica, a od njih 11 niskorizičnih trudnica, 19 visokorizičnih i od njih samo 3 s gestacijskim dijabetesom. Također, pojedini biokemijski pokazatelji poput metabolita određivani su imunokemijskim metodama koje su izuzetno osjetljive na uvjete rada i različite druge interferencije.

## 7. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- U 1. tromjesečju, kod ispitanica s povećanim rizikom za gestacijski dijabetes značajno su više vrijednosti hemoglobina u odnosu na one koje imaju nizak rizik
- U 1. tromjesečju, kod ispitanica s povećanim rizikom za gestacijski dijabetes značajno su niže vrijednosti CRP-a u odnosu na one koje imaju nizak rizik
- U 3. tromjesečju, kod ispitanica s povećanim rizikom za gestacijski dijabetes značajno su niže vrijednosti B-limfocita (CD19+CD5+) u odnosu na one koje imaju nizak rizik
- Žene koje su razvile gestacijski dijabetes u 1. tromjesečju imaju značajno niže vrijednosti limfocita, inzulina i mjere inzulinske rezistencije, HOMA-IR, u odnosu na visokorizične trudnice
- U 3. tromjesečju nema značajnih razlika u biokemijskim pokazateljima između žena s visokim rizikom za gestacijski dijabetes i onih koje su uistinu razvile gestacijski dijabetes
- Žene koje su razvile GDM u 1. tromjesečju imaju značajno niže vrijednosti B-limfocita (CD19+CD5+) u odnosu na one koje su u niskom riziku za razvoj GDMa
- U 3. tromjesečju, nema značajnih razlika u biokemijskim pokazateljima između žena s niskim rizikom za GDM i onih koje su razvile GDM, osim u slučaju B-limfocita (CD19+CD5+) s obzirom na to da trudnice s GDM-om imaju značajno niže vrijednosti u odnosu na žene s niskim rizikom
- U 1. i 3. tromjesečju nema značajne povezanosti hemoglobina s vrijednostima glikoziliranog hemoglobina, HbA1c

## 8. SAŽETAK

**CILJ:** Cilj je istraživanja ispitati mogu li pojedini metabolički i imunološki pokazatelji iz krvi trudnica izmjereni tijekom 1. i 3. tromjesečja trudnoće poslužiti kao prediktivni i/ili dijagnostički biomarker u ranom otkrivanju gestacijskog dijabetesa.

**NACRT ISTRAŽIVANJA:** Istraživanje je dizajnirano kao prospektivna kohortna studija.

**ISPITANICI I POSTUPCI:** U istraživanje je uključeno 30 trudnica koje su bile trenutno dobrog općeg stanja i bez poznatih imunoloških bolesti. Trudnice su tijekom 1. i 3. tromjesečja trudnoće popunile upitnike s pitanjima o trudnoći. Nakon popunjavanja svakoga upitnika, trudnicama je izvađena periferna venska krv. Trudnice su svrstane u različite kategorije ovisno o riziku za razvoj gestacijskog dijabetesa. Iz uzoraka venske krvi analizirali su se različiti biokemijski pokazatelji vezani uz gestacijski dijabetes.

**REZULTATI:** Tijekom 1. tromjesečja visokorizične trudnice imaju više vrijednosti hemoglobina i niže vrijednosti CRPa u odnosu na niskorizične, a u 3. tromjesečju iste imaju niže vrijednosti B-limfocita (CD19+CD5+) u odnosu na niskorizične trudnice. Dijabetičarke tijekom 1. tromjesečja imaju niže vrijednosti limfocita, inzulina i HOMA-IR u odnosu na visokorizičnu grupu dok u 3. tromjesečju nema značajne razlike između dviju skupina. U usporedbi niskorizičnih trudnica i dijabetičarki, posljednje imaju značajno nižu vrijednost B-limfocita (CD19+CD5+) tijekom prvog i trećeg tromjesečja. Nema značajne povezanosti između hemoglobina i HbA1c tijekom 1. i 3. tromjesečja.

**ZAKLJUČAK:** Postoji razlika između pojedinih biokemijskih pokazatelja prema tromjesečjima ovisno o kategoriji trudnica prema riziku za razvoj gestacijskog dijabetesa. Većina analiziranih pokazatelja pokazala je nisku osjetljivost ili specifičnost da bi mogla služiti kao biomarker gestacijskog dijabetesa, osim B-limfocita (CD19+CD5+) koji bi mogli biti biomarker.

Ključne riječi: biomarkeri; dijabetes, gestacijski; dijagnoza

## 9. SUMMARY

### **Characterization of the metabolic and immune profile during pregnancy**

**OBJECTIVE:** The aim of the research is to examine whether certain metabolic and immunological indicators from the blood of pregnant women measured during the 1st and 3rd trimesters of pregnancy can serve as predictive and/or diagnostic biomarkers in the early detection of gestational diabetes.

**STUDY DESIGN:** The research was organised as a prospective cohort study.

**PARTICIPANTS AND METHODS:** 30 pregnant women who were currently in good general condition and without known immune diseases were included in the research. During the 1st and 3rd trimesters of pregnancy, pregnant women filled out questionnaires with questions about pregnancy. After filling out each questionnaire, peripheral venous blood was taken from the pregnant women. Pregnant women are classified into different categories depending on their risk for developing gestational diabetes. Various biochemical indicators related to gestational diabetes were analyzed from venous blood samples.

**RESULTS:** During the 1st trimester, high-risk pregnant women have higher hemoglobin values and lower CRPa values compared to low-risk pregnant women, and in the 3rd trimester, they have lower B-lymphocyte values (CD19+CD5+) compared to low-risk pregnant women. Diabetic women during the 1st trimester have lower values of lymphocytes, insulin and HOMA-IR compared to the high-risk group, while in the 3rd trimester there is no significant difference between the two groups. In a comparison of low-risk pregnant women and diabetic women, the latter have a significantly lower value of B-lymphocytes (CD19+CD5+) during the first and third trimesters. There is no significant association between hemoglobin and HbA1c during the 1st and 3rd trimesters.

**CONCLUSION:** There is a difference between certain biochemical indicators according to trimesters depending on the category of pregnant women according to the risk for developing gestational diabetes. Most of the analyzed indicators showed low sensitivity or specificity to be able to serve as a biomarker of gestational diabetes, except for B-lymphocytes (CD19+CD5+) which could be a biomarker.

**Keywords:** biomarkers; diabetes, gestational; diagnosis

**10. LITERATURA**

1. ACOG Practice Bulletin No. 190: Gestational Diabetes Mellitus. *Obstet. Gynecol.* 2018;131:e49–e64
2. International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas*, 10th ed.; IDF: Brussels, Belgium, 2021
3. American Diabetes Association Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes – 2018. *Diabetes Care.* 2018;41:S13–S27
4. Haneda M, Noda M, Origasa H, Noto H, Yabe D, Fujita Y i sur. Japanese Clinical Practice Guideline for Diabetes 2016. *J. Diabetes Investig.* 2018;9:657–697
5. Chiu KC, Go RC, Aoki M, Riggs AC, Tanizawa Y, Acton RT i sur. Glucokinase gene in gestational diabetes mellitus: Population association study and molecular scanning. *Diabetologia.* 1994;37:104–110
6. Damm P, Kühl C, Buschard K, Jakobsen BK, Svejgaard A, Sodoyez-Goffaux F i sur. Prevalence and predictive value of islet cell antibodies and insulin autoantibodies in women with gestational diabetes. *Diabet. Med. J. Br. Diabet. Assoc.* 1994;11:558–563
7. Okosun IS, Chandra KMD, Boev A, Boltri JM, Choi ST, Parish DC i sur. Abdominal adiposity in U.S. adults: Prevalence and trends, 1960-2000. *Prev. Med.* 2004;39:197–206
8. Durnwald C. Gestational diabetes: Linking epidemiology, excessive gestational weight gain, adverse pregnancy outcomes, and future metabolic syndrome. *Semin. Perinatol.* 2015;39:254–258
9. Zhang C, Tobias DK, Chavarro JE, Bao W, Wang D, Ley SH i sur. Adherence to healthy lifestyle and risk of gestational diabetes mellitus: prospective cohort study. *BMJ* 2014;349:g5450
10. Lao TT, Ho LF, Chan BCP, Leung WC. Maternal Age and Prevalence of Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2006;29:948–949
11. Levy A, Wiznitzer A, Holcberg G, Mazor M, Sheiner E. Family history of diabetes mellitus as an independent risk factor for macrosomia and cesarean delivery. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2010;23:148–152



12. Anghebem-Oliveira MI, Martins BR, Alberton D, de Ramos EAS, Picheth G, de Rego FGM. Type 2 diabetes-associated genetic variants of FTO, LEPR, PPAR $\gamma$ , and TCF7L2 in gestational diabetes in a Brazilian population. *Arch. Endocrinol. MeTable* 2017;61:238–248
13. Jenum AK, Mørkrid K, Sletner L, Vange S, Torper JL, Nakstad B i sur. Impact of ethnicity on gestational diabetes identified with the WHO and the modified International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups criteria: A population-based cohort study. *Eur. J. Endocrinol.* 2012;166:317–324
14. Peters RK, Kjos SL, Xiang A, Buchanan TA. Long-term diabetogenic effect of single pregnancy in women with previous gestational diabetes mellitus. *Lancet Lond. Engl.* 1996;347:227–230
15. Hrvatska komora medicinskih biokemičara. Laboratorijska dijagnostika šećerne bolesti u trudnoći. Standardni laboratorijski postupak [Internet]. Dostupno na: [https://www.hkmb.hr/dokumenti/2014/HKMB%20PPSP%203%20ispravak%20JM%2021\\_02\\_14.pdf](https://www.hkmb.hr/dokumenti/2014/HKMB%20PPSP%203%20ispravak%20JM%2021_02_14.pdf). Datum pristupa: 24.06.2023.
16. Inocêncio G, Braga A, Lima T, Vieira B, Zulmira R, Carinhas M i sur. Which Factors Influence the Type of Delivery and Cesarean Section Rate in Women with Gestational Diabetes? *J Reprod Med.* 2015;60(11-12):529-34
17. Plows JF, Stanley JL, Baker PN, Reynolds CM, Vickers MH. The Pathophysiology of Gestational Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci.* 2018;19(11):3342
18. Barbour LA, McCurdy CE, Hernandez TL, Kirwan JP, Catalano PM, Friedman JE. Cellular mechanisms for insulin resistance in normal pregnancy and gestational diabetes. *Diabetes Care.* 2007;30(Suppl. 2):S112–S119
19. Catalano PM. Trying to understand gestational diabetes. *Diabet. Med.* 2014;31:273–281
20. Catalano PM, Huston L, Amini SB, Kalhan SC. Longitudinal changes in glucose metabolism during pregnancy in obese women with normal glucose tolerance and gestational diabetes mellitus. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1999;180:903–916
21. Weir GC, Laybutt DR, Kaneto H, Bonner-Weir S, Sharma A. Beta-cell adaptation and decompensation during the progression of diabetes. *Diabetes* 2001;50 (Suppl. 1):S154–159

22. Lappas M. Effect of pre-existing maternal obesity, gestational diabetes and adipokines on the expression of genes involved in lipid metabolism in adipose tissue. *Metabolism* 2014;63: 250–262
23. Burks DJ, White MF. IRS proteins and beta-cell function. *Diabetes* 2001;50 (Suppl. 1):S140–S145
24. Zhu C, Yang H, Geng Q, Ma Q, Long Y, Zhou C i sur. Association of oxidative stress biomarkers with gestational diabetes mellitus in pregnant women: A case-control study. *PLoS ONE* 2015;10:e0126490
25. Jones HN, Jansson T, Powell TL. IL-6 stimulates system A amino acid transporter activity in trophoblast cells through STAT3 and increased expression of SNAT2. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2009;297:C1228–C1235
26. Radaelli T, Lepercq J, Varastehpour A, Basu S, Catalano PM, Hauguel-De Mouzon S. Differential regulation of genes for fetoplacental lipid pathways in pregnancy with gestational and type 1 diabetes mellitus. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2009;201:209.e1–209.e10
27. Olmos-Ortiz A, Flores-Espinosa P, Díaz L, Velázquez P, Ramírez-Isarraraz C, Zaga-Clavellina V. Immunoendocrine Dysregulation during Gestational Diabetes Mellitus: The Central Role of the Placenta [Internet]. *Int J Mol Sci.* 2021;22(15):8087. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34360849/>. Datum pristupa: 24.06.2023.
28. Brink HS, van der Lely AJ, van der Linden J. The potential role of biomarkers in predicting gestational diabetes. *Endocr Connect.* 2016;5:R26–34
29. Kennelly MA, McAuliffe FM. Prediction and prevention of Gestational Diabetes: an update of recent literature. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2016;202:92–8
30. Rodrigo N, Glastras S. The Emerging Role of Biomarkers in the Diagnosis of Gestational Diabetes Mellitus [Internet]. *J Clin Med.* 2018;7:120. Dostupno na adresi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29882903/>. Datum pristupa: 24.06.2023.
31. Amirian A, Rahnemaei FA, Abdi F. Role of C-reactive Protein (CRP) or high-sensitivity CRP in predicting gestational diabetes Mellitus: Systematic review. *Diabetes Metab Syndr.* 2020;14:229–36
32. Powe CE. Early Pregnancy Biochemical Predictors of Gestational Diabetes Mellitus. *Curr Diab Rep.* 2017;17:12

33. Yang H, Zhu C, Ma Q, Long Y, Cheng Z. Variations of blood cells in prediction of gestational diabetes mellitus. *J Perinat Med.* 2015;43:89–93
34. Djelti F, Merzouk H, Merzouk SA, Narce M. In vitro effects of oil's fatty acids on T cell function in gestational diabetic pregnant women and their newborns. *J Diabetes.* 2015;7:512–22
35. Sahbaz A, Cicekler H, Aynioglu O, Isik H, Ozmen U. Comparison of the predictive value of plateletcrit with various other blood parameters in gestational diabetes development. *J Obstet Gynaecol.* 2016;36:589–93
36. Sun T, Meng F, Zhao H, Yang M, Zhang R, Yu Z, i sur. Elevated First-Trimester Neutrophil Count Is Closely Associated With the Development of Maternal Gestational Diabetes Mellitus and Adverse Pregnancy Outcomes. *Diabetes.* 2020;69:1401–10
37. Kebapcilar L. Is the Mean Platelet Volume a Predictive Marker of a Low Apgar Score and Insulin Resistance in Gestational Diabetes Mellitus? A Retrospective Case-Control Study. *J Clin Diagn Res.* 2016;10:C06–10
38. Fagundes DLG, França EL, Gonzatti MB, Rugde MVC, Calderon IMP, Honorio-França AC. The modulatory role of cytokines IL-4 and IL-17 in the functional activity of phagocytes in diabetic pregnant women. *APMIS.* 2018;126:56–64
39. Sifnaios E, Mastorakos G, Psarra K, Panagopoulos ND, Panoulis K, Vitoratos N i sur. Gestational Diabetes and T-cell (Th1/Th2/Th17/Treg) Immune Profile [Internet]. *In Vivo.* 2019;33(1):31-40. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30587599/>. Datum pristupa: 24.06.2023.
40. Lekva T, Norwitz ER, Aukrust P, Ueland T. Impact of systemic inflammation on the progression of gestational diabetes mellitus. *Curr Diab Rep.* 2016;16:26–26
41. Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. IL-17 and Th17 Cells. *Annu Rev Immunol.* 2009;27:485–517
42. Fujio K, Okamura T, Yamamoto K. The family of IL-10-secreting CD4+ T cells. *Advances in Immunology, Elsevier.* 2010;105:99–130
43. Zhuang Y, Zhang J, Li Y, Gu H, Zhao J, Sun Y i sur. B Lymphocytes Are Predictors of Insulin Resistance in Women with Gestational Diabetes Mellitus [Internet]. *Endocr Metab*

Immune Disord Drug Targets. 2019;19(3):358-366. Dostupno na:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30621567/>. Datum pristupa: 22.06.2023.

44. Rajput R, Yogesh Y, Rajput M, Nanda S. Utility of HbA1c for diagnosis of gestational diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract.* 2012;98:104–7
45. Uncu G, Ozan H, Cengiz C. The comparison of 50 grams glucose challenge test, HbA1c and fructosamine levels in diagnosis of gestational diabetes mellitus. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 1995;22:230–4
46. Andersson-Hall U, Carlsson N-G, Sandberg A-S, Holmäng A. Circulating Linoleic Acid is Associated with Improved Glucose Tolerance in Women after Gestational Diabetes. *Nutrients.* 2018;10:1629–46
47. McKinnon KM. Flow Cytometry: An Overview. *Curr Protoc Immunol.* 2018;120:5.1.1-5.1.11.
48. Sissala N, Mustaniemi S, Kajantie E. Higher hemoglobin levels are an independent risk factor for gestational diabetes. *Sci Rep* 12, 1686 (2022)
49. Mehrabian F, Hosseini SM. Comparison of gestational diabetes mellitus and pre-eclampsia in women with high hemoglobin in the first trimester of pregnancy: A longitudinal study. *Pak J Med Sci.* 2013;29(4):986-90
50. Huang Y, Chen X, You ZS, Gu F, Li L, Wang D i sur. The value of first-trimester platelet parameters in predicting gestational diabetes mellitus. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2022;35(11):2031-2035
51. Lyu X, Jia J, Yang H, Deng Y, Wu H, Wang S i sur. Hematological Parameters in the First Trimester and the Risk of Gestational Diabetes Mellitus - Beijing, China, 2017-2020. *China CDC Wkly.* 2023;5(9):194-200
52. Huang X, Zha B, Zhang M, Li Y, Wu Y, Zhang R i sur. Decreased Monocyte Count Is Associated With Gestational Diabetes Mellitus Development, Macrosomia, and Inflammation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2022;107(1):192-204
53. Liu W, Lou X, Zhang Z, Chai Y, Yu Q. Association of neutrophil to lymphocyte ratio, platelet to lymphocyte ratio, mean platelet volume with the risk of gestational diabetes mellitus. *Gynecol Endocrinol.* 2021;37:105–7

54. Mahmoud F, Abul H, Omu A, Haines D. Lymphocyte sub-populations in gestational diabetes. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989. 2005;53:21-9
55. Mahmoud FF, Haines DD, Abul HT, Omu AE, Abu-Donia MB. Butyrylcholinesterase Activity in Gestational Diabetes: Correlation with Lymphocyte Subpopulations in Peripheral Blood. *Am J Reprod Immunol*. 2006;56:185–92
56. Pendeloski KPT, Mattar R, Torloni MR, Gomes CP, Alexandre SM, Daher S. Immunoregulatory molecules in patients with gestational diabetes mellitus. *Endocrine*. 2015;50:99–109
57. De Castro Pernet Hara C, França EL, Gomes Fagundes DL, Ataiades de Queiroz A, Vieira Cunha Rudge M, Honorio-França AC i sur. Characterization of Natural Killer Cells and Cytokines in Maternal Placenta and Fetus of Diabetic Mothers. *J Immunol Res*, 2016;2016:7154524
58. Rahnemaei FA, Pakzad R, Amirian A, Pakzad I, Abdi F. Effect of gestational diabetes mellitus on lipid profile: A systematic review and meta-analysis. *Open Med (Wars)*. 2021;17(1):70-86
59. Omazić J, Viljetić B, Ivić V, Kadivnik M, Zibar L, Müller A i sur. Early markers of gestational diabetes mellitus: what we know and which way forward? [Internet]. *Biochem Med (Zagreb)*. 2021;31(3):030502. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34658643/>. Datum pristupa: 22.06.2023.
60. Schober L, Radnai D, Spratte J, Kisielewicz A, Schmitt E, Mahnke K i sur. The role of regulatory T cell (Treg) subsets in gestational diabetes mellitus. *Clin Exp Immunol*. 2014; 177:76-85
61. Lobo TF, Borges CM, Mattar R, Gomes CP, De Angelo AGS, Pendeloski KPT i sur. Impaired Treg and NK cells profile in overweight women with gestational diabetes mellitus. *Am J Reprod Immunol*. 2018;79:e12810
62. Anna C, Kateřina A, Patrik Š, Lacinová Z, Kloučková J, Kratochvílová H i sur. Subclinical Inflammation and Adipose Tissue Lymphocytes in Pregnant Females With Gestational Diabetes Mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020;105(11):528

63. Adnette F, Magloire PN, Darius S, Moutairou K, Fievet N, Yessoufou A. Th2-Immune Polarizing and Anti-Inflammatory Properties of Insulin Are Not Effective in Type 2 Diabetic Pregnancy. *J Immunol Res.* 2020;2020:2038746
64. Sheu A, Chan Y, Ferguson A, Bakhtyari MB, Hawke W, White C i sur. A proinflammatory CD4+ T cell phenotype in gestational diabetes mellitus. *Diabetologia.* 2018;61(7):1633-1643
65. Kang M, Zhang H, Zhang J, Huang K, Zhao J, Hu J i sur. A Novel Nomogram for Predicting Gestational Diabetes Mellitus During Early Pregnancy. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;12:779210
66. Lin D, Qi Y, Huang C, Wu M, Wang C, Li F i sur. Associations of Lipid Parameters With Insulin Resistance and Diabetes: A Population-Based Study. *Clin Nutr.* 2018;37:1423–9
67. Clark CM, Qiu C, Amerman B, Porter B, Fineberg N, Aldasouqi S i sur. Gestational diabetes: should it be added to the syndrome of insulin resistance? *Diabetes Care.* 1997;20:867–71
68. Correa PJ, Vargas JF, Sen S, Illanes SE. Prediction of Gestational Diabetes Early in Pregnancy: Targeting the Long-Term Complications. *Gynecol Obstet Invest.* 2014;77:145–9
69. Bonakdaran S. Increased Serum Level of FGF21 in Gestational Diabetes Mellitus. *Acta Endocrinol (Buchar).* 2017;13:278–81
70. Yonggang Z, Yipeng Z, Limin Z, Yanyan S, Dabao H, Jiying C. Distribution of complete blood count constituents in gestational diabetes mellitus. *Medicine (Baltimore).* 2021;100(23):e26301
71. Southcombe J, Redman C, Sargent I. Peripheral blood invariant natural killer T cells throughout pregnancy and in preeclamptic women. *J. Reprod. Immunol.* 2010;87:52–59

## 11. ŽIVOTOPIS

Blaž Dumančić

Datum i mjesto rođenja:

Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku

4. kolovoza 1996., Osijek

Medicinski fakultet

Opatijska 31, 31000 Osijek

Studij medicine

Mob. 099/875 7964

Josipa Huttlera 4, 31000 Osijek

e-mail: dumancicblaz@gmail.com

Tel. 031/512 800

### OBRAZOVANJE:

2017. – 2023. – studij medicine, Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku

2011. – 2015. – I. gimnazija (opća) Osijek

2007. – 2011. – Osnovna škola Tin Ujević, Osijek

2003. – 2007. – Osnovna škola Retfala, Osijek

### STRANI JEZICI:

2014. – njemačka jezična diploma (DSD, Stufe II) na razini B2

### STUDENTSKE AKTIVNOSTI:

2023. – završio tečaj trajne izobrazbe liječnika 1. kategorije pod nazivom „Kada i kako učiniti krikotireotomiju“ u organizaciji studentske sekcije za anesteziologiju pri MEFOSu

2023. – koautor dva rada na Međunarodnom kongresu translacijske medicine u Osijeku (OSCON)

1. Bodakoš K, Mešin M, **Dumančić B**, Zahirović L, Trconić M, Kvolik S – Generalized emphysema as a cause of hemodynamic instability: A case report

2. Mešin M, **Dumančić B**, Bodakoš K, Žgela M, Prlić Seršić I, Kvolik S – *Bronchus suis* in a patient with gunshot wound due to attempted suicide: A case report

2022./2023. – član studentske sekcije za anesteziologiju pri MEFOSu

2022./2023. – voditelj demonstratora na kolegiju anatomija pri Katedri za anatomiju i neuroznanost, MEFOS

2020./2021. – volonter tijekom pandemije COVID-19, KBC Osijek

2018. – 2023. – demonstrator na kolegiju anatomija, Katedra za anatomiju i neuroznanost, MEFOS



**12. PRILOZI**

Prilog 1. Upitnik za trudnice u 1. tromjesečju trudnoće

Prilog 2. Upitnik za trudnice u 3. tromjesečju trudnoće

## Prilog 1. Upitnik za trudnice u 1. tromjesečju trudnoće

**Naziv projekta:** *Analiza limfocitnih subpopulacija u trudnica s gestacijskim dijabetesom*  
(IP17-MEFOS-2021)

**Voditelj projekta:** *prof. dr. sc. Jasenka Wagner Kostadinović*

**Upitnik za trudnice u 1. tromjesečju**

Datum i mjesto istraživanja: \_\_\_\_\_

***Osobni podaci***

Ime i prezime: \_\_\_\_\_

Datum rođenja: \_\_\_\_\_

Stručna sprema: \_\_\_\_\_

Kontakt broj i e-mail adresa: \_\_\_\_\_

U kojem ste tjednu trudnoće?: \_\_\_\_\_

***Stil života / rizični faktori***

Koristite li cigarete?

- a) Ne, nikada
- b) Ne, niti sam izložena pasivnom pušenju
- c) Da; ako da, kada ste počeli pušiti? \_\_\_\_\_
- d) Prestala sam pušiti; ako da, kada? \_\_\_\_\_

Ako pušite, koliko cigareta dnevno?

- a) Manje od 5 dnevno
- b) 5-10 dnevno
- c) 10-20 dnevno
- d) Više od 20 dnevno

Konzumirate li alkohol?      **DA**                      **NE**

Ako da, koliko često konzumirate i koliko? \_\_\_\_\_

Koristite li narkotike?      **DA**                      **NE**

Pijete li kavu?      **DA**                      **NE**

Ako da, koliko šalice dnevno?

\_\_\_\_\_

### ***Prehrambene navike i aktivnost***

Bavite li se fizičkom aktivnošću, i ako da, koliko često?

**Redovito**      **Povremeno**                      **Rijetko**                      **Nikada**

Kako procjenjujete svoju tjelesnu aktivnost?

a) aktivnost <30-40min dnevno                      b) 30-40min dnevno                      c) aktivnost >30-40min dnevno

Imate li problem s prekomjernom tjelesnom težinom?      **DA**                      **NE**

Koliko kilograma trenutno imate? \_\_\_\_\_

Koliko ste imali kilograma prije trudnoće? \_\_\_\_\_

Koliko ste visoki? \_\_\_\_\_

BMI \_\_\_\_\_ (izračunat će ispitivač)

Omjer struk/bokovi u prvom tromjesečju: \_\_\_\_\_ (izračunat će ispitivač)

Mislite li da jedete raznoliku hranu?      **DA**                      **NE**

Opišite svoju prehranu. Vrste namirnica koje pretežno konzumirate (zaokružite):

- o voće
- o povrće
- o bijelo meso
- o crveno meso
- o juhe
- o žitarice neprerađene
- o kruh
- o tjestenina
- o slatkiši i keksi
- o čips i ostale slane grickalice
- o zašećereni sokovi
- o prirodni nešećereni sokovi
- o voda
- o žestoka alkoholna pića
- o pivo
- o vino

### ***Trenutno uzimanje lijekova/vitamina/dodataka***

Uzimate li ikakve lijekove izvan trudnoće?                      **DA**                      **NE**

Ako da, koje i zašto? \_\_\_\_\_

### ***Povijest bolesti***

Imate li nešto od sljedećih bolesti? (vrijeme izvan trudnoće)

- o Anemija
- o Defekt koagulacije (zgrušavanja krvi)
- o Dijabetes
- o Endokrine probleme (štitna žlijezda, policistični jajnici, drugo)
- o Gastrointestinalne probleme (GERB, drugo)
- o Migrenozne glavobolje
- o Šumove na srcu
- o Povišene vrijednosti kolesterola

- o Povišene vrijednosti krvnog tlaka
- o Bubrežne probleme
- o Tromboembolijske poremećaje

Imate li u obiteljskoj anamnezi šećernu bolest?      **DA**                      **NE**

### *Ginekološka anamneza*

S koliko godina ste dobili prvu menstruaciju? \_\_\_\_\_

Kakvi su vam menstruacijski ciklusi?

**Uredni**                      **Obilni**                      **Oskudni**                      **Neredoviti**

Imate li krvarenja (spottinge) između ciklusa?

Imate li cistično promijenjene jajnike?      **DA**                      **NE**

### *Opstetrička anamneza*

Jeste li do sada rađali?      **DA**                      **NE**

Ako da, koliko puta? \_\_\_\_\_

Jeste li imali problema sa zanošenjem?      **DA**                      **NE**

Jeste li imali spontane ili namjerne pobačaje?      **DA**                      **NE**

Ako da, koliko? \_\_\_\_\_

U slučaju spontanih pobačaja, u kojem tjednu/tjednima su isti bili? \_\_\_\_\_

Jeste li imali neki od navedenih problema u prethodnoj trudnoći/trudnoćama?

- o Povišene vrijednosti krvnog tlaka
- o Problemi sa štitnjačom
- o Šećerna bolest u trudnoći

Jeste li u prethodnoj trudnoći/trudnoćama rodili dijete teže od 4000g?      **DA**                      **NE**

### *Aktualna trudnoća*

Navedite datum zadnje menstruacije: \_\_\_\_\_

Jeste li tijekom ove trudnoće imali ikakve komplikacije? **DA NE**

Ako da, koje: dijabetes, bolesti vezane za poremećaje krvnog tlaka, bolesti vezane za štitnjaču, upale mokraćnog sustava, upale rodnice, anemiju

Druge, koje? \_\_\_\_\_

Jeste li uzimali ikakvu terapiju za gore navedene bolesti? **DA NE**

Ako da, koju i koliko dugo? \_\_\_\_\_

Jeste li imali pozitivan nalaz urinokulture ili cervikalnih briseva? **DA NE**

Ako da, koji je uzročnik bio u pitanju? \_\_\_\_\_

U slučaju upale rodnice ili mokraćnoga mjehura, je li ista bila izliječena? **DA NE**

Jeste li vaginalno krvarili tijekom trudnoće? **DA NE**

Ako da, jeste li uzimali neki oblik terapije tijekom trudnoće? **DA NE**

Ako da, koju terapiju i kako? \_\_\_\_\_

**ZAHVALJUJEMO NA SURADNJI!**

## Prilog 2. Upitnik za trudnice u 3. tromjesečju trudnoće



**Naziv projekta:** Analiza limfocitnih subpopulacija kod trudnica s gestacijskim dijabetesom  
(IP17-MEFOS-2021)

**Voditelj projekta:** prof. dr. sc. Jasenka Wagner Kostadinović

**Upitnik za trudnice u 3. tromjesečju**

Koliko kilograma trenutno imate? \_\_\_\_\_

Vrijednost glukoze u OGTT-u (24. - 28. tjedan): \_\_\_\_\_

Jeste li tijekom ove trudnoće imali gestacijski dijabetes?    **DA**    **NE**

Jeste li uzimali terapiju za gestacijski dijabetes?    **DA**    **NE**

Ako da, koju terapiju? \_\_\_\_\_

Jeste li tijekom ove trudnoće imali druge komplikacije?    **DA**    **NE**

Ako da, koje: vaginalno krvarenje, bolesti vezane za poremećaje krvnog tlaka, bolesti vezane za štitnjaču, upale mokraćnog sustava, upale rodnice, anemiju.

Druge, koje? \_\_\_\_\_

Jeste li uzimali ikakvu terapiju za gore navedene bolesti?    **DA**    **NE**

Ako da, koju terapiju i kako? \_\_\_\_\_