

Myles Wolf¹, Jenny Sauk¹, Anand Shah¹, Karen Vossen Smirnakis¹,
Ricardo Jimenez-Kimble¹, Jeffrey L. Ecker², Ravi Thadhani^{1, 2}

¹Renal Unit, Department of Medicine, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts

²Department of Obstetrics and Gynecology, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts

Proces zapalenia a nietolerancja glukozy

Prospektywne badanie cukrzycy ciążowej

Inflammation and glucose intolerance
A prospective study of gestational diabetes mellitus

Przedrukowano za zgodą z: *Diabetes Care* 2004; 27: 21–27

STRESZCZENIE

WSTĘP. Podwyższony poziom leukocytów w surowicy krwi jest wskaźnikiem procesu zapalenia, który, jak wykazują badania prospektywne, wiąże się z rozwojem cukrzycy typu 2. Chociaż cukrzyca ciążowa oraz cukrzyca typu 2 mają dużo wspólnych mechanizmów patofizjologicznych, w niewielu pracach badano związek zapalenia z rozwojem cukrzycy ciążowej.

MATERIAŁ I METODY. W badaniu oceniano w sposób prospektywny liczbę leukocytów w próbkach krwi pobranych podczas pierwszej rutynowej wizyty kontrolnej w grupie 2753 kobiet w ciąży — wieloródek z prawidłową wartością glikemii. U 98 (3,6%) z nich wystąpiła później cukrzyca ciążowa. Pacjentki podzielono na podgrupy w zależności od kwartyli liczby leukocytów i porównano wyniki przeprowadzanego w trzecim trymestrze przesiewowego testu tolerancji glukozy oraz częstość cukrzycy ciążowej wśród kobiet należących do poszczególnych kwartyli. Zastosowano test regresji logistycznej, aby obliczyć skorygowane względem jednego i wielu

czynników względne ryzyko wystąpienia cukrzycy ciążowej w zależności od kwartyli leukocytozy.

WYNIKI. U kobiet, u których doszło do rozwoju cukrzycy ciążowej, stężenie leukocytów w surowicy krwi było wyższe ($10,5 \pm 2,2$ vs. $9,2 \pm 2,2 \times 10^3$ komórek/ml; $p < 0,01$) niż u pacjentek, u których metabolizm węglowodanów pozostał prawidłowy. Wraz ze wzrostem kwartyli leukocytozy obserwowano liniowy wzrost glikemii po obciążeniu glukozą ($p < 0,01$), pola pod krzywą testu tolerancji glukozy ($p < 0,01$) oraz częstości cukrzycy ciążowej (kwartył 1. — 1,1%; kwartył 2. — 2,5%; kwartył 3. — 4,2% i kwartył 4. — 6,4%; $p < 0,01$). W analizie wieloczynnikowej, wraz ze wzrostem kwartyli leukocytozy, liniowy trend względnego ryzyka (RR, *relative risk*) rozwoju cukrzycy ciążowej pozostał statystycznie istotny [kwartył 1. — referencyjny, kwartył 2. — RR 2,3 (95% CI 0,9–5,7), kwartył 3. — RR 3,3 (1,4–7,8), kwartył 4. — RR 4,9 (2,1–11,2); $p < 0,01$].

WNIOSKI. Podwyższony poziom leukocytów we wczesnym okresie ciąży jest w sposób niezależny, liniowy związane z wynikami testów przesiewowych w kierunku cukrzycy ciążowej oraz ryzykiem wystąpienia tej choroby. Brak wyraźnej granicy w rozkładzie liczby leukocytów sprawia, że wskaźnik ten nie może mieć zastosowania klinicznego, chociaż dane sugerują, że proces zapalenia wiąże się z rozwojem cukrzycy ciążowej. Może to być kolejny mechanizm patofizjologiczny, łączący występowanie cukrzycy ciążowej z rozwojem w przyszłości cukrzycy typu 2.

Słowa kluczowe: nietolerancja glukozy, zapalenie, cukrzyca ciążowa

Adres do korespondencji: Myles Wolf
Bartlet, Massachusetts General Hospital
55 Fruit St., Boston, MA 02114,
e-mail: mswolf@partners.org

Copyright © 2004 by American Diabetes Association, Inc.
American Diabetes Association nie odpowiada
za poprawność tłumaczenia

Diabetologia Praktyczna 2004, tom 5, 2, 85–94
Tłumaczenie: dr med. Anna Korzon-Burakowska
Wydanie polskie: Via Medica

ABSTRACT

INTRODUCTION. Increased leukocyte count is a marker of inflammation that has been associated with the development of type 2 diabetes in prospective studies. Although gestational diabetes mellitus (GDM) and type 2 diabetes share certain pathophysiological mechanisms, few studies have examined inflammation and risk of GDM.

MATERIAL AND METHODS. We prospectively examined routine leukocyte counts collected at the first prenatal visit in a cohort of 2,753 nulliparous euglycemic women, 98 (3.6%) of whom were later diagnosed with GDM. Subjects were divided into quartiles of leukocyte count, and the results of third-trimester glucose screening tests and the incidence of GDM among these quartiles were compared. Logistic regression was used to calculate univariate and multivariable-adjusted relative risks (RRs) of GDM according to leukocyte quartiles.

RESULTS. Leukocyte counts were increased among women who subsequently developed GDM compared with those who remained free of GDM (10.5 ± 2.2 vs. $9.2 \pm 2.2 \times 10^3$ cells/ml; $P < 0.01$). There was a linear increase in postloading mean glucose levels (P for trend < 0.01), the area under the glucose tolerance test curves (P for trend < 0.01), and the incidence of GDM (quartile 1, 1.1; quartile 2, 2.5; quartile 3, 4.2; and quartile 4, 6.4%; P for trend < 0.01) with increasing leukocyte quartiles. In the multivariable-adjusted analysis, the linear trend in the RR of GDM with increasing leukocyte quartiles remained statistically significant (quartile 1, reference; quartile 2, RR 2.3 [95% CI 0.9–5.7]; quartile 3, 3.3 [1.4–7.8]; quartile 4, 4.9 [2.1–11.2]; P for trend < 0.01).

CONCLUSIONS. Increased leukocyte count early in pregnancy is independently and linearly associated with the results of GDM screening tests and the risk of GDM. Although overlap in the leukocyte count distributions precludes it from being a clinically useful biomarker, these data suggest that inflammation is associated with the development of GDM and may be another pathophysiological link between GDM and future type 2 diabetes.

Key words: glucose intolerance, inflammation, gestational diabetes mellitus

Wstęp

Cukrzyca ciążowa (GDM, *gestational diabetes mellitus*) dotyczy około 4% ciąż [1, 2]. U kobiet, u których stwierdzono GDM, zwiększa się ryzyko rozwoju cukrzycy typu 2 w późniejszym okresie życia

oraz prawdopodobieństwo ujawnienia się zespołu insulinooporności, który ma związek ze schorzeniami układu sercowo-naczyniowego. Zespół insulinooporności obejmuje: nadciśnienie tętnicze, dyslipidemię, mikroalbuminurię oraz zaburzenia funkcji śródbłonna [3–6]. Kobiety chore na cukrzycę ciążową stanowią więc grupę obciążoną większym ryzykiem wystąpienia schorzeń układu sercowo-naczyniowego, którą można wytypować, jeszcze zanim pojawią się objawy niepożądane. Ponieważ częstość cukrzycy typu 2 wzrasta, przybierając rozmiary epidemii [7], niezbędne staje się lepsze zrozumienie mechanizmów patofizjologicznych GDM, które w późniejszym okresie mogą powodować progresję choroby do cukrzycy typu 2 oraz rozwój schorzeń układu sercowo-naczyniowego. Pozwoli to na opracowanie nowych metod prewencji pierwotnej, których celem będą dodatkowe mechanizmy patofizjologiczne.

Insulinooporność oraz otyłość istotnie przyczyniają się do rozwoju zarówno cukrzycy typu 2, jak i cukrzycy ciążowej [8–10]. Najnowsze dane sugerują, że zapalenie stanowi zasadniczy element zespołu insulinooporności, który także wiąże się z otyłością. W badaniach fizjologicznych [11–13] z zastosowaniem dożylnego testu tolerancji glukozy lub metody klamry euglikemiczno-hiperinsulinowej stwierdzono istnienie bezpośredniego związku między stopniem insulinooporności a poziomami wskaźników zapalenia. Wykazano, że cytokiny zapalne, takie jak czynnik martwicy nowotworów (TNF- α , *tumor necrosis factor*) oraz interleukina IL-6, które są wydzielane przez tkankę tłuszczową, a ich stężenia są podwyższone w surowicy otyłych chorych [14, 15], wywołują insulinooporność [16–18]. U kobiet z zespołem policystycznych jajników, który wiąże się z insulinoopornością, otyłością oraz zwiększonym ryzykiem cukrzycy ciążowej i cukrzycy typu 2, również stwierdza się podwyższone stężenia wskaźników zapalenia [19, 20]. Natomiast zmniejszenie insulinooporności poprzez redukcję masy ciała lub zastosowanie leków uwrażliwiających na działanie insuliny, takich jak troglitazon, prowadziło do obniżenia stężenia białka C-reaktywnego (CRP, *C-reactive protein*) oraz TNF- α [21–24].

Wyniki dużych badań prospektywnych sugerują, że zapalenie może stanowić patomechanizm, leżący u podłoża wielu niekorzystnych zdarzeń klinicznych związanych z insulinoopornością i otyłością. Podwyższone wartości wskaźników zapalenia, takich jak liczba leukocytów oraz białko C-reaktywne, prowadzą do rozwoju w późniejszym okresie cukrzycy typu 2, schorzeń układu sercowo-naczyniowego oraz do zgonu [11–13, 25–29]. Chociaż insulinooporność

i otyłość predysponują do rozwoju cukrzycy typu 2 i cukrzycy ciążowej, w niewielu pracach badano związek między zapaleniem a rozwojem tych schorzeń. Ostatnio wykazano, że TNF- α jest podstawowym mediatorem narastania insulinooporności charakterystycznej dla prawidłowej ciąży, ale nie stwierdzono różnic w stężeniach TNF- α we wczesnym okresie ciąży wśród kobiet, u których później doszło do rozwoju cukrzycy ciążowej i kobiet z prawidłowymi wynikami testu tolerancji glukozy [30]. W małym, progresywnym badaniu z udziałem grupy kontrolnej [31] podwyższone stężenia CRP w pierwszym trymestrze ciąży wiązały się z rozwojem cukrzycy ciążowej, ale efekt ten był słabszy, kiedy skorygowano dane względem różnic wartości wskaźnika masy ciała (BMI, *body mass index*). Dlatego kwestia, czy zapalenie jest niezależnie związane z rozwojem cukrzycy ciążowej, nie jest do końca wyjaśniona. Przeprowadzono prospektywne badanie kohortowe, aby sprawdzić następującą hipotezę: 1) nasilenie zapalenia we wczesnym okresie ciąży, objawiające się podwyższeniem liczby leukocytów wiąże się z rozwojem cukrzycy ciążowej; 2) związek między zapaleniem a cukrzycą ciążową jest niezależny od otyłości; 3) między zapaleniem a cukrzycą ciążową istnieje zależność typu dawka-odpowiedź. (Nasilenie procesu zapalenia wykazuje liniową zależność ze zwiększonym ryzykiem cukrzycy ciążowej oraz stopniem hiperglikemii, stwierdzonym na podstawie wyników badań przesiewowych wykonanych w trzecim trymestrze ciąży).

Materiał i metody

Massachusetts General Hospital Obstetric Maternal Study (MOMS) jest prospektywnym badaniem kohortowym, obejmującym wszystkie kobiety w ciąży, pozostające pod opieką położniczą Massachusetts General Hospital (MGH). Jego celem była ocena czynników ryzyka rozwoju GDM we wczesnej ciąży. Populacja pacjentek szpitala w Massachusetts, który prowadzi opiekę położniczą w szpitalu głównym w Bostonie oraz w ośrodkach zdrowia w Chelsea, Wschodnim Bostonie, Revere i Waltham, jest bardzo zróżnicowana pod względem społeczno-ekonomicznym i etnicznym. Ponad 97% podopiecznych MGH rodzi w szpitalu głównym. Wszystkie ośrodki korzystają z jednolitego systemu elektronicznej rejestracji danych medycznych i prowadzą na bieżąco dokumentację dotyczącą przebiegu ciąży, zawierającą dane demograficzne, wzrost, masę ciała, ciśnienie tętnicze, wyniki badań laboratoryjnych, badań przesiewowych w kierunku cukrzycy, badań moczu oraz dane dotyczące matki i dziecka. Wszystkie informacje są wprowadzane do systemu elektronicz-

nej rejestracji danych przez pracowników medycznych, zajmujących się kobietą ciężarną, w placówce, w której pacjentka jest objęta opieką, dzięki temu dane nie są zniekształcane przez znajomość faktów dotyczących zakończenia ciąży. Wszystkie wprowadzone w ośrodku informacje raz na kwartał przesyłano bezpośrednio do bazy danych szpitala, a badacze uwierzytelniali wszystkie badania dotyczące przebiegu ciąży za pomocą ustalonych kryteriów. W badaniu nie wykorzystano żadnych dodatkowych informacji zebranych w sposób retrospektywny z historii choroby pacjentek. Komisja Etyki Badań Naukowych MGH wyraziła zgodę na przeprowadzenie badania.

W szpitalu w Massachusetts pełne badanie morfologii krwi przeprowadza się rutynowo, w ramach opieki prenatalnej, u wszystkich kobiet we wczesnym okresie ciąży. Do potrzeb niniejszej pracy ustalono, że wartością wyjściową stanowi liczba leukocytów, oznaczona podczas pierwszej wizyty pacjentki w poradni (zwykle między 8. a 12. tygodniem ciąży). W okresie od października 1998 roku do stycznia 2002 roku oceniano liczbę leukocytów we wczesnym okresie ciąży u 3043 kobiet w pierwszej ciąży, które później urodziły żywe dzieci. U 180 z nich badanie przeprowadzono przed pierwszą rutynową wizytą, gdy pacjentka sama zgłosiła się wcześniej lub w nagłych wypadkach. Danych tych kobiet nie uwzględniono w obliczeniach, aby uniknąć sytuacji, w których wykonanie morfologii krwi w trybie innym niż rutynowy mogło być spowodowane przyczynami wpływającymi na podwyższenie poziomu leukocytów, na przykład w ramach diagnostyki infekcji lub krwawienia. U ponad 96% kobiet w trzecim trymestrze ciąży, około 28. tygodnia wykonano badanie przesiewowe w kierunku cukrzycy ciążowej z zastosowaniem 50 g glukozy i ocenę glikemii godzinę po wypiciu glukozy (test nie był przeprowadzany na czczo). U kobiet, u których glikemia po 1 godzinie przekraczała 7,8 mmol/l (140 mg/dl) wykonywano po 1–2 tygodniach test tolerancji glukozy (100 g glukozy) z oceną glikemii po kolejnych 3 godzinach. Cukrzycę ciążową rozpoznawano, gdy co najmniej dwa z czterech wykonywanych co godzinę oznaczeń glikemii przekraczały następujące wartości: na czczo ponad 5,3 mmol/l (95 mg/dl), po 1 godzinie ponad 10,0 mmol/l (180 mg/dl), po 2 godzinach ponad 8,6 mmol/l (154 mg/dl) i po 3 godzinach ponad 7,8 mmol/l (140 mg/dl). Kobiety, u których nie wykonano testu w trzecim trymestrze ($n = 110$), ponieważ albo się na to nie zgodziły, albo wcześniej rozpoznano u nich cukrzycę ciążową na podstawie podmiotowych i przedmiotowych objawów klinicz-

nych, wykluczono z badania. Ostatecznie do badania włączono 2753 kobiety, u 98 (3,6%) z nich stwierdzono cukrzycę ciążową. Liczbę leukocytów mierzono, stosując standardowy aparat *Bayer Advia 120 Hematology System* (Bayer Group Leverkusen, Niemcy), który charakteryzuje się współczynnikiem zmienności poniżej 3%. Glikemię mierzono za pomocą standardowych metod z oksydazą glukozy, dla których współczynnik zmienności zarówno dla danego badania, jak i pomiędzy pomiarami wynosi mniej niż 3%.

Analiza miała odpowiedzieć na pytania, czy podwyższony poziom leukocytów na początku okresu obserwacji wiązał się z rozwojem GDM i czy jego stopniowy wzrost powodował stopniowy wzrost hiperglikemii i zwiększał ryzyko GDM (zależność typu dawka-odpowiedź). Aby stwierdzić, czy współistniejąca infekcja mogła tłumaczyć różnice w poziomie leukocytów, porównano liczbę przypadków infekcji dróg moczowych i innych istotnych klinicznie infekcji w chwili pobierania krwi u wszystkich 98 kobiet, u których doszło do rozwoju cukrzycy ciążowej i u 98 z 2655 pacjentek, u których nie rozpoznano cukrzycy ciążowej. Grupa bez cukrzycy została wybrana losowo, po dobraniu pod względem zgodności dnia pobrania próbki krwi (± 1 dzień) z grupą, w której rozwinęła się cukrzyca ciążowa, aby wykluczyć zależną od pory roku zmienność w częstości występowania infekcji. Nie stwierdzono różnic we wskaźnikach infekcji między obiema grupami kobiet, z rozpoznaną cukrzycą ciążową oraz z prawidłowym metabolizmem węglowodanów (8 z 98 vs. 7 z 98, $p = 1,0$), ani związku między infekcją a liczbą leukocytów (korelacja Spearmana — 0,04, $p = 0,6$), co sugeruje, że wpływ infekcji na wyniki badań jest mało prawdopodobny.

W obu grupach kobiet po porodzie, zarówno tych, u których doszło do rozwoju cukrzycy, jak i z prawidłowym metabolizmem węglowodanów, porównano wyniki, stosując test t dla dwóch zmiennych, dla zmiennych ciągłych lub dokładny test Fishera dla zmiennych jakościowych. Test t dla dwóch zmiennych zastosowano do porównania średniej wyjściowej liczby leukocytów w obu grupach. Aby stwierdzić istnienie zależności typu dawka-odpowiedź między wyjściowym poziomem leukocytów a stopniem nietolerancji glukozy, grupę kobiet bez cukrzycy podzielono na podgrupy. Pierwsza z nich obejmowała kobiety z prawidłowym wynikiem testu obciążenia 50 g glukozy ($n = 2299$), w skład drugiej weszły kobiety z nieprawidłowym wynikiem testu obciążenia 50 g glukozy, ale prawidłowym po obciążeniu 100 g glukozy ($n = 356$). Zbadano zależność liniową dotyczącą średniej liczby leukocytów

przy porównaniu grupy z prawidłowym wynikiem testu obciążenia 50 g glukozy, grupy z nieprawidłowym wynikiem testu obciążenia 50 g glukozy, ale prawidłowym wynikiem testu obciążenia 100 g glukozy oraz grupę z rozpoznaną cukrzycą ciążową. Analizowano również sparowane korelacje liniowe między liczbą leukocytów a stężeniami glukozy w teście obciążenia 50 g glukozy oraz polem pod krzywą testu obciążenia 100 g glukozy [32].

Aby dokładniej ocenić związek między wyjściową liczbą leukocytów a ryzykiem rozwoju GDM, pacjentki podzielono na kwartyle odpowiadające rozkładowi leukocytozy u kobiet bez GDM. Podobny podział zastosowano we wcześniejszych badaniach prospektywnych, dotyczących zapalenia i ryzyka rozwoju cukrzycy typu 2 [12, 33]. Porównano wyniki badań przesiewowych w kierunku cukrzycy ciążowej oraz jej częstość w zależności od kwartyli liczby leukocytów. Względne ryzyko rozwoju cukrzycy ciążowej, porównując każdy z górnych kwartyli z kwartylem najniższej leukocytozy (grupa referencyjna), obliczono za pomocą regresji logistycznej. Aby określić, czy występował istotny stopniowy wzrost ryzyka rozwoju cukrzycy ciążowej wraz ze wzrostem poziomu leukocytów, obliczono wartość p dla liniowego trendu względnego ryzyka. Do obliczenia względnego ryzyka cukrzycy ciążowej w grupie wyższych kwartyli leukocytozy, skorygowanego względem potencjalnych czynników wpływających na to ryzyko, zastosowano test wieloczynnikowej regresji logistycznej. Do czynników, oceniających w analizie wieloczynnikowej należały te, o których wiadomo, że wiążą się z cukrzycą ciążową: wiek, rasę, wskaźnik masy ciała (BMI, masa ciała w kilogramach podzielona przez kwadrat wzrostu w metrach), wielokrotne ciążę, przewlekłe nadciśnienie tętnicze oraz nadciśnienie w przebiegu ciąży, stan przedrzucawkowy (ciśnienie tętnicze $\geq 140/90$ mm Hg po 20. tygodniu ciąży, z białkomoczem o wielkości $\geq 2+$ przy pomiarze paskiem testowym lub ≥ 300 mg/24 h, przy braku infekcji lub nadciśnienie rozwijające się w przebiegu ciąży (ciśnienie tętnicze $\geq 140/90$ mm Hg po 20. tygodniu ciąży, bez towarzyszącego białkomoczu) [34] oraz czynniki związane z samym pomiarem leukocytozy, takie jak: palenie tytoniu, ciśnienie tętnicze oraz wiek ciążowy w chwili pobierania próbki krwi [35, 36]. Wszystkie analizy przeprowadzono, korzystając z pakietu statystycznego Intercooled STATA (STATA College Station, TX). Znamienność statystyczną ustalono na podstawie dwustronnej wartości $p < 0,05$.

Wyniki

Dane wyjściowe oraz w okresie poporodowym kobiet, u których rozwinęła się cukrzyca ciążowa,

Tabela 1. Dane wyjściowe oraz w okresie okołoporodowym w zależności od wyniku ciąży

	Cukrzyca ciążowa	Bez cukrzycy ciążowej	*p
n	98	2655	
Dane początkowe w dniu pierwszej wizyty w poradni dla kobiet w ciąży			
Wiek ciążowy (tygodnie)	10,8 ± 2,7	11,7 ± 4,5	0,05
Wiek (lata)	31,6 ± 5,8	29,2 ± 5,9	< 0,01
Rasa (%)			< 0,01
kaukaska pochodzenia niehiszpańskiego	61	72	
Amerykanki pochodzenia afrykańskiego	10	5	
pochodzenie hiszpańskie	10	14	
pochodzenie azjatyckie	19	9	
Skurczowe ciśnienie tętnicze [mm Hg]	117 ± 11	113 ± 12	< 0,01
Rozkurczowe ciśnienie tętnicze [mm Hg]	74 ± 9	71 ± 9	< 0,01
BMI [kg/m ²]	28,3 ± 7,2	24,6 ± 4,9	< 0,01
Palenie tytoniu (%)			NS
Nigdy	42	49	
Zaprzestała	28	21	
Pali nadal	30	30	
Liczba płodów (%)			< 0,01
Jeden	92	97	
Więcej niż jeden	8	3	
Nadciśnienie tętnicze			
Przewlekłe (%)	15,0	6,4	< 0,01
Podczas ciąży (%)	9,2	7,0	NS
Stan przedrzucawkowy (%)	11,2	4,1	< 0,01
Dane okołoporodowe			
Wiek ciążowy (tygodnie)	38,4 ± 2,5	39,5 ± 1,8	< 0,01
Cięcie cesarskie (%)	40	25	< 0,01
Waga urodzeniowa [g]	3407 ± 604	3357 ± 537	NS

Dane stanowią średnie ± SD, chyba że opisano inaczej; *p dla porównań

a także kobiet z prawidłowym metabolizmem węglowodanów przedstawiono w tabeli 1. Średni wiek ciążowy w chwili pobierania próbki krwi, aby oznaczyć leukocytozę w obu grupach, określono na 10–12 tygodni. W porównaniu z kobietami bez cukrzycy pacjentki, u których rozwinęła się ta choroba, były starsze, z większą masą ciała i wyższym ciśnieniem tętniczym. Większe prawdopodobieństwo rozwoju cukrzycy stwierdzono u kobiet pochodzenia azjatyckiego oraz u pacjentek z przewlekłym nadciśnieniem. Ryzyko wystąpienia stanu przedrzucawkowego wśród kobiet z cukrzycą ciążową było prawie 3-krotnie wyższe niż w grupie bez cukrzycy. Średnia urodzeniowa masa ciała dziecka nie była istotnie wyższa u kobiet z cukrzycą, prawdopodobnie dlatego, że rodziły one o ponad tydzień wcześniej, częściej stwierdzano u nich przewlekłe nadciśnienie tętnicze (jeszcze przed ciążą) oraz stan przedrzucawkowy.

U kobiet, które zachorowały na cukrzycę ciążową, obserwowano wyższy średni poziom leukocytów podczas pierwszej wizyty w poradni prenatalnej (odpowiednio 10,5 ± 2,2 vs. 9,2 ± 2,2 × 10³ komórek/ml; p < 0,01) niż u kobiet bez cukrzycy. W grupie kobiet bez cukrzycy z nieprawidłowym wynikiem testu obciążenia 50 g glukozy [> 7,8 mmol/l (140 mg/dl)], ale prawidłowym wynikiem testu obciążenia 100 g glukozy, stwierdzano istotnie wyższy poziom leukocytów w porównaniu z kobietami z prawidłowym wynikiem testu obciążenia 50 g (odpowiednio 9,6 ± 2,2 vs. 9,2 ± 2,1 × 10³ komórek/ml; p < 0,01). Obserwowano liniowy trend między wzrastającym średnim poziomem leukocytów a pogłębianiem się nietolerancji glukozy od prawidłowej tolerancji glukozy (prawidłowy wynik testu obciążenia 50 g glukozy), poprzez nieprawidłowy wynik testu obciążenia 50 g glukozy, ale prawidłowy wynik testu

Tabela 2. Liczba leukocytów, stężenie glukozy oraz częstość cukrzycy ciążowej w zależności od kwartyła liczby leukocytów

	Kwartył 1	Kwartył 2	Kwartył 3	Kwartył 4	p dla trendu liniowego
n	662	715	668	708	
Zakres liczby leukocytów ($\times 10^3$ komórek/ml)	< 7,9	7,9–9,0	9,1–10,4	> 10,4	—
Glikemia w teście z 50 g glukozy [mmol/l]	6,1 \pm 1,4	6,3 \pm 1,4	6,4 \pm 1,5	6,7 \pm 1,5	< 0,01
Pole pod krzywą w teście ze 100 g glukozy [mmol/l \times 3 h]	20,7 \pm 3,8	21,8 \pm 3,6	22,3 \pm 4,7	22,7 \pm 4,5	< 0,01
Cukrzyca ciążowa (%)	1,1	2,5	4,2	6,4	< 0,01

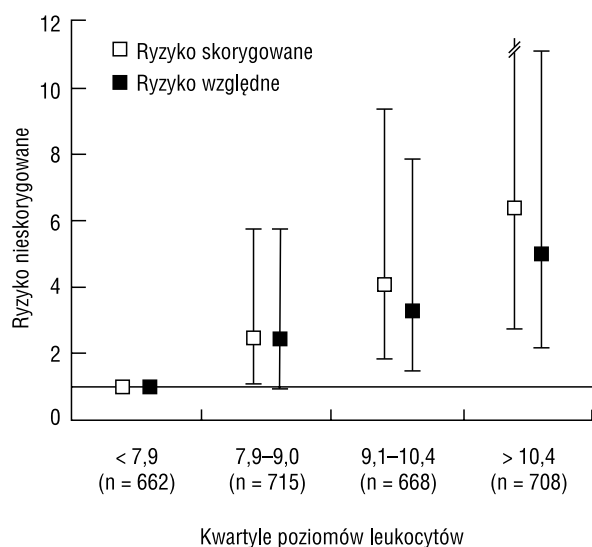
Dane stanowią średnie \pm SD, chyba że opisano inaczej

obciążenia 100 g do cukrzycy ciążowej ($p < 0,01$). W całej badanej populacji liczba leukocytów wykazywała liniową zależność z wartościami glikemii w teście obciążenia 50 g glukozy ($r = 0,14$; $p < 0,01$). U 454 kobiet, u których wykonano test tolerancji glukozy (100 g), stwierdzono liniową zależność między leukocytozą a polem pod krzywą glikemii w teście obciążenia 100 g glukozy ($r = 0,14$; $p < 0,01$).

Podczas dalszej oceny ryzyka wystąpienia cukrzycy ciążowej, uwzględniając wyjściową liczbę leukocytów, pacjentki podzielono na podgrupy w zależności od kwartyła leukocytozy, na podstawie ich rozkładu dla kobiet bez cukrzycy (kwartył 1. < 7,9; kwartył 2. — 7,9–9,0; kwartył 3. — 9,1–10,4 i kwartył 4. > 10,4 $\times 10^3$ komórek/ml). W tabeli 2 przedstawiono wyniki badań przesiewowych w kierunku cukrzycy ciążowej oraz częstość tej choroby w zależności od kwartyła leukocytów. Stwierdzono istotny statystycznie liniowy trend pomiędzy wzrastającym kwartyłem leukocytów a wynikami testu obciążenia 50 g glukozy, polem pod krzywą testu obciążenia 100 g oraz częstością cukrzycy ciążowej (tab. 2).

Nieskorygowane i skorygowane wobec wielu czynników względne ryzyko wystąpienia cukrzycy ciążowej w zależności od kwartyła liczby leukocytów przedstawiono na rycinie 1. W analizie nieskorygowanej obserwowano liniowy wzrost ryzyka względnego cukrzycy ciążowej wraz ze wzrostem kwartyła leukocytozy [kwartył 1. — referencyjny, kwartył 2. — RR 2,4 (95% CI 1,0–5,8), kwartył 3. — RR 4,1 (1,8–9,4), kwartył 4. — RR 6,4 (2,8–14,2); $p < 0,01$]. Po skorygowaniu względem: wieku, rasy, wskaźnika masy ciała, palenia tytoniu, przebytych ciąż, wyjściowego ciśnienia tętniczego, występowania przewlekłego nadciśnienia tętniczego, patologii ciąży oraz wieku ciążowego w chwili pobierania próbki krwi utrzymywał się liniowy związek między wzrastają-

cym kwartyłem leukocytozy a zwiększonym ryzykiem wystąpienia cukrzycy ciążowej [kwartył 1. — referencyjny, kwartył 2. — RR 2,3 (0,9–5,7); kwartył 3. — RR 3,3 (1,4–7,8) i kwartył 4. — RR 4,9 (2,1–11,2); $p < 0,01$]. Do innych czynników niezależnie związanych ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia cukrzycy w czasie ciąży, w modelu wielu zmiennych, należą: starszy wiek matki — ryzyko względne zwiększa się 1,08 na rok (95% CI 1,04–1,13; $p < 0,01$); pochodzenie azjatyckie [4,9 w porównaniu z rasą kaukaską (2,6–9,1; $p < 0,01$)]; rasa afroamerykańska [3,2 w porównaniu z rasą kaukaską (1,5–7,0; $p < 0,01$)]; liczne ciążę [2,5 w porównaniu z kobietami, które



Rycina 1. Nieskorygowane i skorygowane względem wielu czynników względne ryzyko rozwoju cukrzycy ciążowej w zależności od liczby leukocytów w surowicy krwi we wczesnej ciąży; kwartył 1. służy jako poziom referencyjny; białe i czarne kwadraty wskazują punkty oceny względnego ryzyka odpowiednio z analizy nieskorygowanej i skorygowanej względem wielu czynników

tylko raz były w ciąży (1,1–5,6; $p < 0,03$) oraz wyższy wskaźnik masy ciała [wzrost 1,10 na jednostkę (1,06–1,13; $p < 0,01$)].

Wnioski

W prospektywnie ocenianej grupie badanych kobiet, będących w kolejnej ciąży, wzrost liczby leukocytów we wczesnym okresie ciąży wiązał się ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia cukrzycy ciążyowej. Był to związek niezależny od innych znanych czynników ryzyka, takich jak: starszy wiek matki, rasa inna niż kaukaska, otyłość, nadciśnienie tętnicze oraz wiele wcześniejszych ciąży. Stwierdzono liniowy wzrost ryzyka wystąpienia cukrzycy ciążyowej wraz ze wzrostem kwartyła leukocytozy, liniową zależność między liczbą leukocytów a wynikiem testu obciążenia 50 g glukozy oraz testu obciążenia 100 g glukozy i stopniowy wzrost średniej liczby leukocytów wraz z bardziej zaawansowaną nietolerancją glukozy, co sugeruje występowanie zależności typu dawka-odpowiedź między zapaleniem a tolerancją glukozy podczas ciąży. Omawiane wyniki są zgodne z wynikami poprzednich badań prospektywnych u kobiet niebędących w ciąży. Dostarczają kolejnych dowodów, potwierdzających hipotezę, że proces zapalenia przyczynia się do rozwoju cukrzycy w czasie ciąży.

Wywołana cytokinami insulinooporność może być podstawowym mechanizmem, leżącym u podłoża związku między zapaleniem a nietolerancją glukozy. Interleukina 6 i $TNF-\alpha$, które są wydzielane w odpowiedzi na infekcję, uraz tkanek i w przebiegu ciąży [30, 37], może bezpośrednio hamować stymulowaną przez insulinę fosforylację tyrozyny na poziomie receptora insulinowego [16, 18]. Cytokiny zapalne również stymulują wydzielanie kortyzolu i hormonu wzrostu — hormonów przeciwregulacyjnych, które przyczyniają się do powstania insulinooporności i hiperglikemii [27]. Ponadto, katecholaminy stymulują proces uwalniania IL-6 z hepatocytów oraz adipocytów [38]. Podwyższone podstawowe stężenie katecholamin stwierdza się w otyłości oraz w cukrzycy typu 2 [39]. Adipocyty są głównym źródłem IL-6 oraz $TNF-\alpha$, tak więc przy zwiększonej liczbie komórek tłuszczowych dochodzi do podwyższenia stężenia tych cytokin, co sugeruje, że proces zapalenia jest jednym z mechanizmów łączących otyłość z insulinoopornością [14, 15]. Podwyższony poziom leukocytów stanowi odpowiedź ostrej fazy na bodziec, jakim jest stymulacja IL-6. Polimorfizm nukleotydu w genie IL-6, który prowadzi do podwyższenia stężenia IL-6, jest również odpowiedzialny za zwiększoną leukocytozę oraz zmniejszoną wrażliwość na insulinę [40].

W wielu dużych, prospektywnych badaniach oceniano ryzyko rozwoju cukrzycy typu 2 w zależności od wyjściowej liczby leukocytów. W prospektywnym badaniu Indian Pima [12] podwyższona leukocytoza, stwierdzona na początku obserwacji, wiązała się z bardziej nasiloną insulinoopornością oraz zwiększoną zapadalnością na cukrzycę typu 2 w ciągu 5 lat obserwacji. Nie stwierdzono wpływu zapalenia na wydzielanie insuliny, co wskazuje, że stan zapalny przyczynia się do rozwoju cukrzycy poprzez działanie na poziomie tkanek docelowych dla insuliny [12]. W badaniu *Atherosclerosis Risk in Communities*, w którym wzięło udział ponad 12 tysięcy kobiet i mężczyzn rasy kaukaskiej i afroamerykańskiej, obserwowano niezależny związek między 50-procentowym zwiększeniem zapadalności na cukrzycę w ciągu kolejnych 7 lat obserwacji a liczbą leukocytów w najwyższym w porównaniu z najniższym kwartylem [41]. W *National Health and Nutrition Examination Survey Epidemiologic Follow-up Study* podwyższony poziom leukocytów wykazywał niezależny związek ze wzrostem ryzyka zachorowania na cukrzycę typu 2 u kobiet o 70% [42]. Ważne jest, że w każdym z tych badań średnia liczba leukocytów, która wykazywała związek ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na cukrzycę typu 2, mieściła się w zakresie wartości prawidłowych, podobnie jak w badaniu autorów. W przeprowadzonych ostatnio badaniach prospektywnych dotyczących CRP [29, 33] stosowano metody o wysokiej rozdzielczości, ponieważ niewielki, mieszczący się w granicach normy, wzrost CRP w stosunku do wartości wiązał się z istotnie zwiększonym ryzykiem rozwoju cukrzycy typu 2 i schorzeń układu sercowo-naczyniowego. Omawiane wyniki mogą potwierdzić hipotezę, że przebiegający podklinicznie proces zapalny jest jednym z potencjalnych mechanizmów leżących u podłoża cukrzycy.

We wcześniejszych prospektywnych badaniach typu *case-control*, prowadzonych w ramach tej samej populacji [31], stwierdzono istotny związek między podwyższonym stężeniem CRP a rozwojem cukrzycy ciążyowej, ale związek ten był słabszy po skorygowaniu względem wskaźnika masy ciała. Chociaż wyniki wydają się sprzeczne z uzyskanymi w ostatnim badaniu, za tę rozbieżność mogą być odpowiedzialne różnice w mocy statystycznej. W omawianym badaniu stężenie CRP ściśle korelowało ze wskaźnikiem masy ciała ($r = \sim 0,4$). Ponieważ osoby z grupy badanej charakteryzowały się wyższym wskaźnikiem masy ciała niż osoby z grupy kontrolnej, stężenie CRP również osiągnęło w nich wyższe wartości. Różnica ta uległa zmniejszeniu po skory-

gowaniu względem masy ciała. W obszerniejszej próbie klinicznej większa moc testu oraz słabsza zależność między liczbą leukocytów a wskaźnikiem masy ciała ($r = 0,16$) pozwoliła na określenie ich niezależnego wpływu na ryzyko rozwoju cukrzycy ciążowej. Dane są zbliżone do wyników uzyskanych w innych dużych badaniach prospektywnych [12, 41], w których związek między leukocytozą a rozwojem cukrzycy typu 2 nie został przesłonięty przez różnice we wskaźniku masy ciała. W jednym z badań [43] najsilniejszy związek między zapaleniem a cukrzycą występował u osób z prawidłową masą ciała, potwierdzając hipotezę, że proces zapalenia przyczynia się do powstawania zaburzeń tolerancji glukozy niezależnie od otyłości.

Niektóre z wprowadzonych w badaniu zasad wymagają szczególnego podkreślenia. Po pierwsze, wykluczono kobiety z „wczesną cukrzycą ciążową”, to znaczy kobiety, u których rozpoznano GDM z powodu wystąpienia objawów podmiotowych i przedmiotowych cukrzycy przed wykonaniem rutynowych badań przesiewowych w trzecim trymestrze ciąży. Chociaż chorobę tę określa się jako cukrzycę ciążową, u wielu pacjentek cukrzyca mogła się rozwinąć jeszcze przed zajściem w ciążę. Biorąc pod uwagę znany związek między podwyższoną leukocytozą a cukrzycą, wykluczenie tych kobiet mogło znacznie zmniejszyć prawdziwą różnicę dotyczącą liczby leukocytów między kobietami z GDM a pacjentkami bez tej choroby. Ponadto, we wszystkich zasadniczych analizach w grupie bez cukrzycy ciążowej znalazło się 356 kobiet z negatywnym wynikiem testu obciążenia 50 g glukozy, u niektórych stwierdzano również nieprawidłową glikemię w teście obciążenia 100 g glukozy. W tej podgrupie pacjentek obserwowano wyjściowo istotnie wyższą średnią liczbę leukocytów w porównaniu z podgrupą bez cukrzycy ciążowej z prawidłowym wynikiem testu obciążenia 50 g glukozy. Gdyby porównano kobiety z cukrzycą ciążową tylko z pacjentkami z całkowicie prawidłową tolerancją glukozy, tak jak w poprzednich pracach [31, 44], różnice średniej liczby leukocytów byłyby jeszcze wyraźniejsze.

Po drugie, w wielu prospektywnych badaniach stwierdzono istnienie związku między podwyższonym poziomem wskaźników zapalenia a rozwojem cukrzycy, w większości prac określano względne ryzyko jej rozwoju, oceniane na podstawie porównania osób z najwyższego i najniższego kwartyła poziomu wskaźników zapalenia. Niewiele prac dostarczyło dowodów na istnienie pośredniego ryzyka w pośrednich kwartyłach, a więc statystycznie istotnego liniowego wzrostu ryzyka względnego wraz ze

wzrostem poziomu wskaźników zapalenia, jak obserwowano w omawianym badaniu. Zależność typu dawka-odpowiedź między pomiarem leukocytozy a rozwojem cukrzycy ciążowej potwierdza hipotezę, że stan zapalny przyczynia się do rozwoju nietolerancji glikozy. Również inne obserwacje zależności dawka-odpowiedź potwierdzają powyższą hipotezę. Stwierdzono istotną korelację między poziomem zapalenia a stopniem nietolerancji glukozy określonym na podstawie wyników testów obciążenia 50 i 100 g glukozy: u kobiet z prawidłowym wynikiem testu obciążenia 50 g glukozy obserwowano najniższą wyjściową średnią liczbę leukocytów, u pacjentek z nieprawidłowym wynikiem testu obciążenia 50 g glukozy, ale prawidłowymi wynikami po obciążeniu 100 g glukozy, liczba leukocytów była pośrednia, podczas gdy u kobiet z cukrzycą ciążową liczba ta była najwyższa. Ponadto, stwierdzono istotną liniową zależność między liczbą leukocytów, wartościami glikemii w teście obciążenia 50 g glukozy oraz polem pod krzywą w teście obciążenia 100 g glukozy. Chociaż korelacja leukocytoza-glikemia w teście z 50 g glukozy może się początkowo wydawać słaba ($r = 0,14$), należy podkreślić, że została ona stwierdzona mimo braku standaryzacji badania (np. na czczo lub po jedzeniu, w zależności od pory dnia itp.), co spowodowało zwiększenie rozpiętości wyników pomiaru glikemii. U kobiet, u których dojdzie do rozwoju cukrzycy ciążowej, obserwuje się nasilenie procesu zapalenia we wczesnym okresie ciąży, mniej więcej 20 tygodni przed rozpoznaniem cukrzycy. Ponadto, stopień nasilenia procesu zapalenia, oceniany na początku, wykazuje liniowy związek ze stopniem hiperglikemii oraz stopniem ryzyka rozwoju cukrzycy ciążowej.

Po trzecie, ryzyko względne było istotnie wyższe w badaniu dotyczącym ciąży niż w badaniach dotyczących cukrzycy typu 2. We wcześniejszych próbach klinicznych największe względne ryzyko cukrzycy typu 2 przy porównaniu najwyższego kwartyła leukocytozy z grupą referencyjną wynosiło 1,7, podczas gdy w omawianej pracy maksymalne ryzyko względne w analizie wieloczynnikowej było prawie 5-krotnie wyższe. Powód tak istotnego wzrostu w zakresie kryteriów oceny w badaniu nad cukrzycą ciążową nie jest znany. Być może proces zapalenia wykazuje silniejszy związek z cukrzycą ciążową, ponieważ fizjologiczne nasilenie insulinooporności, występujące w prawidłowej ciąży, działa w sposób addytywny z przebiegającym podklinicznie procesem zapalenia, przejawiając się jako cukrzyca ciążowa. Można również przypuszczać, że odpowiedzialny za te rozbieżności jest zróżnicowany czas, wpływający

od momentu pomiaru liczby leukocytów do rozwoju cukrzycy ciążyowej. Podczas długiego czasu (lata) między pomiarem oraz rozwojem cukrzycy typu 2, wiele dodatkowych czynników, poza zapaleniem oraz różnym stopniem nasilenia procesu zapalnego, może wpływać na ryzyko rozwoju cukrzycy i zmniejszać szacunkowe ryzyko określane na podstawie początkowego pomiaru liczby leukocytów. Taki błąd jest mniej prawdopodobny w omawianym badaniu, ponieważ czas od pomiaru leukocytozy do rozwoju cukrzycy ciążyowej był krótszy (miesiące).

Należy jednak też podkreślić, że liczba leukocytów jest stosunkowo mało specyficznym wskaźnikiem procesu zapalenia, na który wpływa wiele czynników, takich jak: infekcje, niektóre leki oraz wiek ciążyowy [45]. Badacze ocenili, że nie można całkowicie wykluczyć wpływu nieznanymi czynników. Jednak brak precyzji lub błędna klasyfikacja pomiaru raczej podważałaby założoną hipotezę, tak więc stwierdzenie występowania statystycznie istotnych związków, mimo tych ograniczeń, wzmacnia raczej niż osłabia te wyniki [46]. Ponadto, nie obserwowano różnic we wskaźnikach występowania infekcji w chwili pobierania próbek krwi w celu określenia liczby leukocytów pomiędzy grupą kobiet, u których rozwinęła się GDM, a pacjentek bez GDM i nie stwierdzano związku między infekcją a liczbą leukocytów. Starano się zminimalizować wpływ współistniejącej infekcji poprzez wykluczenie kobiet, u których pomiar leukocytozy przeprowadzono przed rutynowymi badaniami przesiewowymi. Lekarz mógł zlecić wykonanie takiego badania, jeśli występowały krwawienia z pochwy lub cechy infekcji. Czas pobrania próbki krwi nie wpływał na wynik badania, liczba leukocytów nie zwiększała się wraz z wiekiem ciążyowym ($r = 0,07$; $p < 0,01$) i zostało to uwzględnione w modelu wieloczynnikowym.

Ograniczenie stanowił również fakt, że chociaż średnia liczba leukocytów była istotnie wyższa u kobiet, u których w późniejszym okresie rozwinęła się GDM, to częściowe nakładanie się w rozkładzie liczby leukocytów i stosunkowo mała bezwzględna różnica w wartościach sprawiają, że ten wskaźnik nie może być stosowany w praktyce klinicznej u poszczególnych pacjentek. Jednak celem omawianego badania, podobnie jak poprzednich, dotyczących liczby leukocytów i cukrzycy typu 2, nie było znalezienie nowej metody badań przesiewowych ani testu diagnostycznego, lecz zbadanie mechanizmów choroby. Warto jednak zauważyć, że stosunkowo mało specyficzny wskaźnik, jakim jest liczba leukocytów we wczesnych miesiącach, wiąże się z powikłaniami ciąży, rozwijającymi się znacznie później. Sugeruje

to, że zastosowanie nowych, bardzo czułych technologii do celów diagnostycznych i prognostycznych we wczesnej ciąży może być w przyszłości stosowane w badaniach klinicznych.

Proces zapalny, pojawiający się podczas ciąży, może być elementem fenotypu przedcukrzycowego, tak jak ma to miejsce w cukrzycy typu 2. W przyszłości bardziej precyzyjne pomiary wskaźników zapalenia (np. profilu cytokin) mogą znaleźć zastosowanie kliniczne, wskazując, u której z kobiet rozwinie się GDM. Warto prowadzić dalsze badania nad zagadnieniem, czy wskaźniki zapalenia mogą wskazać, u której z pacjentek istnieje najwyższe ryzyko ponownego wystąpienia GDM lub progresji do cukrzycy typu 2 po porodzie. Należy zauważyć, że w omawianej pracy wykazano nasilenie procesu zapalenia oraz jego wpływ na efekt kliniczny w populacji znacznie młodszych kobiet niż w populacjach badanych w większości prac dotyczących cukrzycy i schorzeń układu sercowo-naczyniowego. W świetle poczynionych ostatnio postępów w prewencji pierwotnej cukrzycy typu 2 oraz chorób układu sercowo-naczyniowego wyniki omawianego badania powinny mieć istotne znaczenie i wpływ na metody modyfikacji czynników ryzyka stosowane przez różnych klinicystów zajmujących się zdrowiem kobiet, nie tylko przez diabetologów i położników.

Podziękowania

Granty naukowe na przeprowadzenie opisanego badania przekazały i wyasygnowały: *the American Heart Association* (to M.W.), *the Canada-U.S. Fulbright Program* (to A.S.), *the American Kidney Fund* (to K.V.S.), *the American Diabetes Association* (to J.L.E.), and *the McGuirk Family Research Foundation*.

PIŚMIENNICTWO

1. National High Blood Pressure Education Program Working Group: National High Blood Pressure Education Program Working Group Report on High Blood Pressure in Pregnancy. National Institutes of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute, Bethesda 2000; 1–38.
2. Buchanan T.A., Kjos S.L.: Gestational diabetes: risk or myth? *J. Endocrinol. Metab.* 1999; 84: 1854–1857.
3. Verma A., Boney C.M., Tucker R., Vohr B.R.: Insulin resistance syndrome in women with prior history of gestational diabetes mellitus. *J. Endocrinol. Metab.* 2002; 87: 3227–3235.
4. Meyers-Seifer C.H., Vohr B.R.: Lipid levels in former gestational diabetic mothers. *Diabetes Care* 1996; 19: 1351–1356.
5. Go R.C., Desmond R., Roseman J.M., Bell D.S., Vanichanan C., Acton R.T.: Prevalence and risk factors of microalbuminuria in a cohort of African-American women with gestational diabetes. *Diabetes Care* 2001; 24: 1764–1769.
6. Paradisi G., Biaggi A., Ferrazzani S., De Carolis S., Caruso A.: Abnormal carbohydrate metabolism during pregnancy:

- association with endothelial dysfunction. *Diabetes Care* 2002; 25: 560–564.
7. Mokdad A.H., Bowman B.A., Ford E.S., Vinicor F., Marks J.S., Koplan J.P.: The continuing epidemics of obesity and diabetes in the United States. *JAMA* 2001; 286: 1195–1200.
 8. Buchanan T.A.: Pancreatic β -cell defects in gestational diabetes: implications for the pathogenesis and prevention of type 2 diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001; 86: 989–993.
 9. Catalano P.M., Huston L., Amini S.B., Kalhan S.C.: 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.
 10. Catalano P.M., Tyzbir E.D., Wolfe R.R. i wsp.: Carbohydrate metabolism during pregnancy in control subjects and women with gestational diabetes. *Am. J. Physiol.* 1993; 264: E60–E67.
 11. Festa A., D'Agostino R. Jr., Howard G., Mykkanen L., Tracy R.P., Haffner S.M.: Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation* 2000; 102: 42–47.
 12. Vojarova B., Weyer C., Lindsay R.S., Pratley R.E., Bogardus C., Tataranni P.A.: High white blood cell count is associated with a worsening of insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 455–461.
 13. Weyer C., Yudkin J.S., Stehouwer C.D., Schalkwijk C.G., Pratley R.E., Tataranni P.A.: Humoral markers of inflammation and endothelial dysfunction in relation to adiposity and in vivo insulin action in Pima Indians. *Atherosclerosis* 2002; 161: 233–242.
 14. Hotamisligil G.S., Shargill N.S., Spiegelman B.M.: Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993; 259: 87–91.
 15. Katsuki A., Sumida Y., Murashima S. i wsp.: Serum levels of tumor necrosis factor- α are increased in obese patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1998; 83: 859–862.
 16. Hotamisligil G.S.: Mechanisms of TNF- α -induced insulin resistance. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 1999; 107: 119–125.
 17. Winkler G., Salamon F., Salamon D., Speer G., Simon K., Cseh K.: Elevated serum tumour necrosis factor- α levels can contribute to the insulin resistance in type II (non-insulin-dependent) diabetes and in obesity (Letter). *Diabetologia* 1998; 41: 860–861.
 18. Senn J.J., Klover P.J., Nowak I.A., Mooney R.A.: Interleukin-6 induces cellular insulin resistance in hepatocytes. *Diabetes* 2002; 51: 3391–3399.
 19. Radon P.A., McMahon M.J., Meyer W.R.: Impaired glucose tolerance in pregnant women with polycystic ovary syndrome. *Obstet. Gynecol.* 1999; 94: 194–197.
 20. Kelly C.C., Lyall H., Petrie J.R., Gould G.W., Connell J.M., Sattar N.: Low grade chronic inflammation in women with polycystic ovarian syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001; 86: 2453–2455.
 21. Ghanim H., Garg R., Aljada A. i wsp.: Suppression of nuclear factor-kappa B and stimulation of inhibitor kappaB by troglitazone: evidence for an anti-inflammatory effect and a potential anti-atherosclerotic effect in the obese. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001; 86: 1306–1312.
 22. Aljada A., Garg R., Ghanim H. i wsp.: Nuclear factor-kappaB suppressive and inhibitor-kappaB stimulatory effects of troglitazone in obese patients with type 2 diabetes: evidence of an anti-inflammatory action? *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001; 86: 3250–3256.
 23. Esposito K., Pontillo A., DiPalo C. i wsp.: Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women: a randomized trial. *JAMA* 2003; 289: 1799–1804.
 24. Ziccardi P., Nappo F., Giugliano G. i wsp.: Reduction of inflammatory cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. *Circulation* 2002; 105: 804–809.
 25. Tamakoshi K., Yatsuya H., Kondo T. i wsp.: The metabolic syndrome is associated with elevated circulating C-reactive protein in healthy reference range, a systemic low-grade inflammatory state. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 2003; 27: 443–449.
 26. Frohlich M., Imhof A., Berg G. i wsp.: Association between C-reactive protein and features of the metabolic syndrome: a population-based study. *Diabetes Care* 2000; 23: 1835–1839.
 27. Pickup J.C., Mattock M.B., Chusney G.D., Burt D.: NIDDM as a disease of the innate immune system: association of acute phase reactants and interleukin-6 with metabolic syndrome X. *Diabetologia* 40; 1997: 1286–1292.
 28. Pradhan A.D., Cook N.R., Buring J.E., Manson J.E., Ridker P.M.: C-reactive protein is independently associated with fasting insulin in non-diabetic women. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003; 23: 650–655.
 29. Ridker P.M., Hennekens C.H., Buring J.E., Rifai N.: C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N. Engl. J. Med.* 2000; 342: 836–843.
 30. Kirwan J.P., Hauguel-De Mouzon S., Lepercq J. i wsp.: TNF- α is a predictor of insulin resistance in human pregnancy. *Diabetes* 2002; 51: 2207–2213.
 31. Wolf M., Sandler L., Hsu K., Vossen-Smirnakis K., Ecker J.L., Thadhani R.: First-trimester C-reactive protein and subsequent gestational diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26: 819–824.
 32. Matthews J.N., Altman D.G., Campbell M.J., Royston P.: Analysis of serial measurements in medical research. *BMJ* 1990; 300: 230–235.
 33. Pradhan A.D., Manson J.E., Rifai N., Buring J.E., Ridker P.M.: C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2001; 286: 327–334.
 34. Kjos S.L., Buchanan T.A.: Gestational diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 1999; 341: 1749–1756.
 35. Friedman G.D., Selby J.V., Quesenberry C.P. Jr.: The leukocyte count: a predictor of hypertension. *J. Clin. Epidemiol.* 1990; 43: 907–911.
 36. Nakanishi N., Sato M., Shirai K., Suzuki K., Tatara K.: White blood cell count as a risk factor for hypertension: a study of Japanese male office workers. *J. Hypertens.* 2002; 20: 851–857.
 37. Pickup J.C., Crook M.A.: Is type II diabetes mellitus a disease of the innate immune system? *Diabetologia* 1998; 41: 1241–1248.
 38. Mohamed-Ali V., Flower L., Sethi J. i wsp.: beta-Adrenergic regulation of IL-6 release from adipose tissue: in vivo and in vitro studies. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001; 86: 5864–5869.
 39. Masuo K., Mikami H., Itoh M., Ogihara T., Tuck M.L.: Sympathetic activity and body mass index contribute to blood pressure levels. *Hypertens. Res.* 2000; 23: 303–310.
 40. Fernandez-Real J.M., Broch M., Vendrell J. i wsp.: Interleukin-6 gene polymorphism and insulin sensitivity. *Diabetes* 2000; 49: 517–520.
 41. Schmidt M.I., Duncan B.B., Sharrett A.R. i wsp.: Markers of inflammation and prediction of diabetes mellitus in adults (Atherosclerosis Risk in Communities study): a cohort study. *Lancet* 1999; 353: 1649–1652.
 42. Ford E.S.: Leukocyte count, erythrocyte sedimentation rate, and diabetes incidence in a national sample of US adults. *Am. J. Epidemiol.* 2002; 155: 57–64.
 43. Barzilay J.I., Abraham L., Heckbert S.R. i wsp.: The relation of markers of inflammation to the development of glucose disorders in the elderly: the Cardiovascular Health Study. *Diabetes* 2001; 50: 2384–2389.
 44. Weijers R.N., Bekedam D.J., Smulders Y.M.: Determinants of mild gestational hyperglycemia and gestational diabetes mellitus in a large Dutch multiethnic cohort. *Diabetes Care* 2002; 25: 72–77.
 45. Kuhnert M., Schmidt S.: Changes in lymphocyte subsets during pregnancy and post-partum in cases of beginning eclampsia. *J. Perinat. Med.* 2000; 28: 389–398.
 46. Rothman K.J., Greenland S.: *Modern Epidemiology*. Little, Brown, Boston 1998.