

P R A C E O R Y G I N A L N E
położnictwo

Wpływ czynników metabolicznych na wzrastanie płodu u ciężarnych z cukrzycą typu 1 oraz wariantem homozygotycznym polimorfizmu -2548 G/A genu leptyny i 668 A/G receptora leptyny

The influence of metabolic parameters on fetal development weight in women with type 1 diabetes and homozygotic variant in -2548 G/A of leptin gene and its 668 A/G receptor polymorphism

Iciek Rafał¹, Wender-Ożegowska Ewa¹, Zawiejska Agnieszka¹,
Seremak-Mrozikiewicz Agnieszka², Drews Krzysztof², Brązert Jacek¹

¹ Klinika Położnictwa i Chorób Kobiectych, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

² Klinika Perinatologii i Chorób Kobiectych, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie

Wstęp: Leptyna, podobnie jak wiele innych hormonów oraz czynników metabolicznych wpływają regulująco na wzrastanie płodu w ciąży powikłanej cukrzycą typu 1. Odmienne warianty genu leptyny oraz jej receptora mogą wpływać na regulację syntezy leptyny w poszczególnych trymestrach ciąży oraz wpływać na metabolizm ciężarnej.

Cel pracy: Określenie wpływu czynników metabolicznych u ciężarnych chorujących na cukrzycę typu 1 (PGDM-1) z wariantem homozygotycznym polimorfizmu regionu promotorowego genu leptyny (-2548 G/A) oraz polimorfizmu genu receptora leptyny (668 G/A) w regulacji wzrastania płodu w ciąży.

Materiał i metodyka: Do badania włączono 30 kobiet z PGDM-1 (spośród N=100 ciężarnych w całej grupie), u których stwierdzono homozygotyczny genotyp zarówno w -2548 G/A jak i w 668 G/A. Genotypy określono za pomocą metody PCR-RFLP. Spośród czynników metabolicznych mogących mieć wpływ na wzrastanie płodu zbadano glikemię, stężenie leptyny, odsetek hemoglobiny glikowanej, profil lipidowy (cholesterol całkowity, frakcje lipidowe LDL i HDL, triglicerydy). Ponadto przeanalizowano wpływ masy ciała ciężarnej na wzrastanie płodu. Analizę przeprowadzono za pomocą regresji wielorakiej oraz wykreślenie krzywych ROC.

Wyniki: Średnia masa płodu w badanej grupie wynosiła 3600g. Wykazano wpływ następujących czynników metabolicznych na wzrastanie płodu: stężenie leptyny w I trymestrze ciąży ($R^2=0,80741288$, $p<0,05$), glikemia w I trymestrze ciąży ($R^2=0,80741288$, $p<0,05$), glikemia w III trymestrze ciąży ($R^2=0,80741288$, $p<0,05$), odsetek HbA1C w I trymestrze ciąży ($R^2=0,80741288$, $p<0,05$), LDL w III trymestrze ciąży ($R^2=0,63192254$, $p<0,05$). Ponadto stwierdzono wpływ czynników takich, jak: stężenie LDL oraz BMI matki w II trymestrze ciąży ($R^2=0,81869348$, $p<0,05$).

Adres do korespondencji:

Rafał Iciek
Klinika Położnictwa i Chorób Kobiectych,
Katedra Ginekologii i Położnictwa Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
60-535 Poznań, ul. Polna 33
tel./fax. +48 61 8419 334;
e-mail: kpichk@gpsk.am.poznan.pl; ralfi@o2.pl

Otrzymano: 10.05.2010
Zaakceptowano do druku: 25.05.2010

Analiza krzywych ROC wykazała dla stężenia leptyny w I trymestrze ciąży - AUC 0,62; czułość 0,75; specyficzność 0,5; punkt odcięcia 28,127ng/ml, dla odsetka HbA1C w III trymestrze ciąży AUC 0,66; czułość 0,23; specyficzność 0,91; punkt odcięcia 7,9%, dla masy ciała ciężarnej w III trymestrze ciąży AUC 0,63; czułość 0,25; specyficzność 0,93; punkt odcięcia 98kg.

Wniosek: W grupie ciężarnych z cukrzycą przedciążową, o homozygotycznym genotypie LEP -2548 G/A oraz LEPR 668 A/G, poza znanymi czynnikami metabolicznymi wpływającymi na wzrastanie płodu, istotny wpływ ma również stężenie leptyny w I trymestrze ciąży.

Słowa kluczowe: **cukrzyca / leptyna / ciąża / polimorfizm / wzrastanie płodu /**

Summary

Introduction: Leptin, as many other hormones and metabolic factors, may play a role in fetal development in pregnancy complicated by type 1 diabetes. Different genetic variants in leptin gene and leptin gene receptor may have influence on leptin synthesis in the course of pregnancy and metabolic state of the mother.

Aim: To assess the possible influence of metabolic factors on fetal weight in type 1 diabetic subjects with homozygotic variants in leptin gene (-2548 G/A) and leptin gene receptor (668 G/A).

Methods: 30 diabetic and homozygotic subjects (out of 100 diabetic subjects) were qualified to the study. Genotyping was performed by PCR-RFLP. The following factors were assessed: glycemia, leptin concentration, glycated hemoglobin, lipid profile (total cholesterol, LDL, HDL, triglycerides), maternal body weight. Multiple regression models were developed and ROC curves were used in the analysis.

Results: Mean fetal weight in the analyzed group was 3600g. The following parameters were found to have influence on fetal weight: I trimester leptin ($R^2=0.80741288$, $p<0.05$), I trimester glycemia ($R^2=0.80741288$, $p<0.05$), III trimester glycemia ($R^2=0.80741288$, $p<0.05$), I trimester HbA1C ($R^2=0.80741288$, $p<0.05$), III trimester LDL ($R^2=0.63192254$, $p<0.05$).

Moreover, the influence of LDL and maternal BMI ($R^2=0.81869348$, $p<0.05$) was found. ROC curve analysis revealed the influence of I trimester leptin - AUC 0.62; sensitivity 0.75; specificity 0.5; cut-off 28.127ng/ml, III trimester HbA1C AUC 0.66; sensitivity 0.23; specificity 0.91; cut-off 7.9%, III trimester mother's weight AUC 0.63; sensitivity 0.25; specificity 0.93; cut-off 98kg.

Conclusion: Apart from well-known metabolic factors influencing fetal weight, I trimester leptin concentration was found to have an impact on fetal growth.

Key words: **diabetes / leptin / pregnancy / polymorphism / fetal development /**

Wstęp

Zgodnie z definicją zaproponowaną przez Światową Organizację Zdrowia (WHO) w 1999 roku, mianem cukrzycy określa się zaburzenia metabolizmu o złożonej etiologii, charakteryzujące się przewlekłą hiperglikemią z towarzyszącymi zaburzeniami metabolizmu węglowodanów, tłuszczu i białek, będącą skutkiem defektu wydzielania insuliny, działania insuliny lub obydwu tych procesów jednocześnie. Klasyfikacja cukrzycy, zaproponowana w roku 1999 uwzględnia cukrzycę typu 1, cukrzycę typu 2, szereg innych podtypów cukrzycy oraz cukrzycę ciążową [1].

Brak prawidłowego wyrównania metabolicznego w przebiegu ciąży, czyli obecność matczynej hiperglikemii, otyłość, zaburzenia metaboliczne oraz nadmierny przyrost masy ciała, mogą skutkować nadmiernym wzrastaniem płodu (makrosomia, LGA), organomegalią, obumarciem wewnątrzmacicznym oraz zaburzeniami metabolicznymi u noworodka po porodzie [2].

Badania ostatnich lat zwróciły uwagę na możliwy udział leptyny (z gr. *leptos* – szczupły) w zaburzeniach wzrastania, hormonu polipeptydowego, będącego produktem tzw. genu otyłości Ob [3]. Produkt genu Ob opisany został po raz pierwszy w 1994 roku przez Zhanga i wsp. na modelu mysim. Gen Ob u myszy położony jest na chromosomie 6. U ludzi homologiczny gen (gen LEP) znajduje się na ramieniu długim chromosomu 7 (7q31.3)

i składa się z 3 odcinków kodujących (eksony) i 2 odcinków niekodujących (introny), zbudowany jest z ok. 20 tysięcy par zasad. W genie tym wykazano istnienie kilku polimorfizmów m.in. polimorfizmu funkcjonalnego V110M, polimorfizmów w regionie promotorowym -188 C/A oraz -2548 G/A [4].

Receptor leptyny jest receptorem polipeptydowym, stanowiącym produkt translacji genu LEPR, który znajduje się na chromosomie 1 (1p31) i składa się z 20 odcinków kodujących (eksonów) i należy on do rodziny receptorów cytokinowych klasy pierwszej (podobnie jak receptor dla interferonu, interleukiny 2 oraz hormonu wzrostu) [4, 5, 6, 7].

Najczęściej badanymi polimorfizmami genu receptora leptyny są polimorfizmy funkcjonalne, jak Gln223Arg (668 A/G) w eksonie 6 oraz Lys109Arg (A/G) w eksonie 4 [5, 8]. Oprócz tego wymienia się mutację cichą T/C w kodonie 343 oraz G/A w kodonie 1019 genu receptora. Ponadto znanych jest także kilka innych polimorfizmów w obrębie genu receptora leptyny, znajdujących się zarówno w rejonie promotorowym oraz poza nim.

W położnictwie rolę leptyny i jej receptorów obserwuje się zarówno w ciąży fizjologicznej, jak i powikłanej cukrzycą ciążową i przedciążową, wewnątrzmacicznym zahamowaniem wzrastania płodu, nadciśnieniem tętniczym przewlekłym, bądź indukowanym ciążą [9, 10, 11, 12].

Charakterystyczny profil wydzielania leptyny podczas ciąży o przebiegu prawidłowym oraz znamienne różnice w jej poziomach w ciąży powikłanej cukrzycą, nadciśnieniem tętniczym czy zaburzeniami wzrastania płodu sugerują rolę tego hormonu, jako czynnika wpływającego na wystąpienie tych powikłań [13].

Gel pracy

Celem niniejszej pracy była ocena, czy rutynowo badane parametry metaboliczne u ciężarnych chorujących na cukrzycę typu 1 (PGDM-1) z homozygotycznym genotypem w zakresie LEP -2548 G/A oraz LEPR 668 A/G mogą mieć wpływ na wzrastanie płodu.

Materiał i metodyka

Do badania zakwalifikowano 30 ciężarnych, spośród całej grupy 100 ciężararnych, chorujących na cukrzycę przedciążową typu 1 (PGDM-1), hospitalizowanych w Klinice Położnictwa i Chorób Kobięcych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, u których wykryto wariant homozygotyczny zarówno z zakresie polimorfizmu regionu promotorowego genu leptyny LEP -2548 G/A jak i polimorfizmu receptora leptyny LEPR 668 A/G.

Parametry biochemiczne badano 1 raz w każdym z trzech trymestrów ciąży. Materiałem do badania stężenia leptyny była surowica krwi obwodowej. Krew pobierano na czczo, w ilości 10ml, do probówek Monovette z wykrzepiaczem. Oznaczenie stężenia leptyny w surowicy krwi wykonano za pomocą zestawów do ilościowego oznaczenia stężenia substancji badanej metodą ELISA przy użyciu zestawów Quantikine Human Leptin Immunoassay (R&D Systems), zgodnie z odpowiednim protokołem zalecanym przez producenta. Oznaczenie stężenia glukozy w osoczu krwi żyłnej wykonano za pomocą testu enzymatyczno-kolorymetrycznego. Normy laboratoryjne dla tej metody to 70–105mg/dl (SI 3,9–5,8mmol/l). W przypadku oznaczania glikemii we krwi włosniczkowej, używano osobistych glukometrów, w które zaopatrzone były pacjentki. Średnią glikemię obliczano z 12 pomiarów glikemii w dobowym profilu. Oznaczenie odsetka HbA1c wykonano w hemolizacji krwi pełnej za pomocą turbidymetrycznej metody immunoinhibicyjnej. Normy laboratoryjne dla tej metody wynoszą 3,8–6,3%. Materiałem do badań stężenia frakcji lipidowych była surowica krwi obwodowej, pobierana na czczo, do probówek Monovette z wykrzepiaczem, w ilości około 10ml. Stężenie cholesterolu całkowitego w surowicy krwi wykonano za pomocą ilościowego enzymatycznego testu kolorymetrycznego z wykorzystaniem esterazy cholesterolowej i oksydazy cholesterolowej, używając odczynników dostarczonych przez firmę Boehringer Mannheim, zgodnie z protokołem zalecanym przez producenta. Normy laboratoryjne dla tej metody to zakres 50–239mg/dl (SI 1,3–6,2mmol/l) – wartości te odczytano na spektrofotometrze Hitachi 912. Stężenie frakcji HDL cholesterolu oznaczane było w ilościowym enzymatycznym teście kolorymetrycznym z zastosowaniem modyfikowanej glikolem polietylenowym esterazy cholesterolowej i oksydazy cholesterolowej oraz siarczanu dekstranu. Wykorzystano zestaw odczynników dostarczonych przez firmę Boehringer Mannheim. Normy laboratoryjne dla tej metody to 45–65mg/dl (SI 1,2–1,7mmol/l).

Stężenie cholesterolu zawartego w lipoproteinach o niskiej gęstości zostało obliczone ze wzoru: LDL = Cholesterol całkowity [mg/dl] – Cholesterol HDL [mg/dl] – Triglicerydy/5 [mg/dl]. Normy laboratoryjne dla tej metody to 35–155mg/dl

(SI 0,9–4,0mmol/l). Stężenie triglicerydów zostało wykonane w ilościowym enzymatycznym teście kolorymetrycznym wg Wahlefelda. W teście tym natężenie barwy produktu końcowego odpowiedniego ciągu reakcji, jest proporcjonalne do stężenia triglicerydów. Normy laboratoryjne dla tej metody to 50–200 [mg/dl] (SI 0,6–2,3 [mmol/l]) – spektrofotometr Hitachi 912.

Badania w surowicy krwi zostały wykonane w Centralnym Laboratorium Ginekologiczno-Położniczym Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

Materiał genetyczny (DNA) do badań molekularnych dla oznaczenia genotypu w zakresie polimorfizmów genu leptyny i genu receptora leptyny uzyskano z leukocytów krwi obwodowej. Izolacji genomowego DNA dokonano za pomocą komercyjnego zestawu QIAamp DNA Blood mini Kit (Qiagen Inc. Germany). Amplifikację DNA wykonano za pomocą reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR – *Polymerase Chain Reaction*, Termocykler PTC 100 Programmable Thermal Controller MJ Research INC.). Celem identyfikacji genotypu w zakresie genu leptyny oraz genu receptora leptyny uzyskany produkt reakcji PCR hydrolizowano enzymami restrykcyjnymi: w przypadku genu leptyny do identyfikacji polimorfizmu regionu promotorowego LEP -2548 G/A wykorzystano enzym Hin6I 5'..G/CGC..3', 3'..CGC/G..5' (Fermentas, Litwa) natomiast w przypadku genu receptora leptyny, do identyfikacji polimorfizmu LEPR 668 A/G wykorzystano enzym MspI 5'...C/CGG...3', 3'...GGC/C...5' (Eurx, Polska). Identyfikacji polimorfizmów dokonano po zastosowaniu elektroforezy na żelu agarozowym.

Po zakończeniu procesu elektroforezy uzyskano następujące wyniki:

Polimorfizm genu leptyny -2548 G/A

- Heterozygota GA 242pz, 181pz, 61pz,
- Homozygota GG 181pz, 61pz,
- Homozygota zmutowana AA - 242pz.

Polimorfizm genu receptora leptyny LEPR 668 A/G

- Heterozygota AG 216pz, 134pz, 82pz,
- Homozygota AA- 216pz,
- Homozygota zmutowana GG 134pz, 82pz.

Badania genetyczne przeprowadzono w Pracowni Biologii Molekularnej Kliniki Perinatologii i Chorób Kobięcych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

Analiza statystyczna

Normalność rozkładu badanych danych sprawdzono testem Kołomogorowa-Smirnoffa. Istotność różnic w opisywanych parametrach badano testem ANOVA oraz *post-hoc* NIR, Scheffego oraz Tukeya.

W analizie wpływu czynników metabolicznych na masę płodu wykorzystano metodę regresji wielokrotnej konstruując modele uwzględniające takie parametry jak: stężenie leptyny w surowicy krwi, stężenie leptyny w surowicy krwi, odsetek hemoglobiny glikowanej, stężenie cholesterolu całkowitego oraz frakcji lipidowych. Uwzględniono także wpływ masy ciała ciężarnej. Wartość poszczególnych parametrów metabolicznych w prognozowaniu masy płodu określono za pomocą krzywych ROC (ROC – *Receiver Operating Curve*) analizując pole pod krzywą AUC (AUC – *Area Under Curve*) oraz czułość i swoistość, podając punkt odcięcia, który charakteryzował się najwyższą czułością i swoistością. W analizie używano programu Statistica 8.0. Istotność statystyczną określono na poziomie wartości $p < 0,05$.

Tabela I. Charakterystyka kliniczna ciężarnych badanej grupy.

Parametr	Wartość			
Wiek (lata)	28 ± 5			
Czas trwania cukrzycy (lata)	10 ± 5			
Wiek wystąpienia cukrzycy (lata)	18 ± 8			
Parametr	I trymestr	II trymestr	Okoloporodowo	p*
Masa ciała (kg)	68 ± 15	73 ± 13	82 ± 15	<0,05 ¹
BMI (kg/m ²)	25 ± 5	26 ± 12	27 ± 14	NS
Leptyna (ng/ml)	26 ± 18	28 ± 25	29 ± 16	NS
Średnia dobowa glikemia (mg/dl)	115 ± 27	105 ± 26	93 ± 14	<0,05 ²
HbA _{1c} (%)	7,9 ± 1,6	7,0 ± 1,6	6,8 ± 1,7	<0,05 ³
Cholesterol LDL (mg/dl)	80 ± 22	86 ± 40	120 ± 44	<0,05 ⁴
Cholesterol HDL (mg/dl)	70 ± 20	80 ± 27	77 ± 30	NS
Cholesterol całkowity (mg/dl)	165 ± 28	210 ± 80	255 ± 57	<0,05 ⁵
Triglicerydy (mg/dl)	90 ± 50	170 ± 95	290 ± 148	<0,05 ⁶
Masa noworodka (g)	3600 ± 600			

* – ANOVA, post-hoc NIR, ¹ – I trymestr vs okoloporodowo, ² – I trymestr vs okoloporodowo,

³ – I trymestr vs okoloporodowo, ⁴ – I i II trymestr vs okoloporodowo, ⁵ – I trymestr vs okoloporodowo,

⁶ – I i II trymestr vs okoloporodowo

Tabela II. Wpływ czynników metabolicznych na masę urodzeniową noworodka w grupie ciężarnych z wariantem homozygotycznym -2548 G/A oraz 668 A/G.

Regresja zmiennej zależnej – parametr masa noworodka (homozygoty)			
Parametr	skoryg. R ²	B	p
Leptyna I trymestr	0,80741288	-12,450	<0,05
Leptyna II trymestr		-9,174	NS
Leptyna III trymestr		-5,725	NS
Glikemia I trymestr		-47,189	<0,05
Glikemia II trymestr		27,123	NS
Glikemia III trymestr		-39,168	<0,05
HbA _{1c} I trymestr		333,569	<0,05
HbA _{1c} II trymestr		-421,578	NS
HbA _{1c} III trymestr		290,301	NS

Tabela III. Wpływ czynników metabolicznych na masę urodzeniową noworodka.

Regresja zmiennej zależnej – parametr masa noworodka (homozygoty)			
Parametr	skoryg. R ²	B	p
BMI II trymestr	0,81869348	42,29	<0,05
LDL III trymestr		46,31	<0,05

Wyniki

W tabeli nr I przedstawiono zbiorczą charakterystykę badanej grupy ciężarnych z homozygotycznym genotypem LEP -2548 G/A i LEPR 668 A/G.

Średni wiek ciężarnych w badanej grupie wynosił 28 lat, średni czas trwania cukrzycy 10 lat, średni wiek wystąpienia cukrzycy 18 rok życia. Wraz z rozwojem ciąży, zaobserwowano znamieny wzrost masy ciała ciężarnej, ale przyrost wskaźnika masy ciała (BMI) nie osiągnął istotności statystycznej. Stężenie leptyny w trakcie trwania ciąży charakteryzowało się tendencją wzrostową, ale wzrost ten także był nieznamienny statystycznie pomiędzy poszczególnymi trymestrami ciąży. Zaobserwowano istotną poprawę wyrównania metabolicznego opisywanego średnią dobową glikemią (12 pomiarów w dobowym profilu) oraz odsetkiem hemoglobiny glikowanej. Stwierdzono ponadto wzrost stężenia frakcji lipidowych oraz cholesterolu całkowitego, z wyjątkiem frakcji HDL cholesterolu. Średnia masa urodzeniowa noworodka w badanej podgrupie wynosiła 3600g.

W tabeli II przeanalizowano wpływ wyrównania metabolicznego podczas całej ciąży, opisywanego za pomocą stężenia leptyny w poszczególnych trymestrach ciąży, średniej dobowej glikemii w 24-godzinny profilu oraz odsetka hemoglobiny glikowanej na punkt końcowy, jakim była masa urodzeniowa noworodka w tej podgrupie ciężarnych.

W modelu analizującym wpływ wyrównania metabolicznego opisywanego stężeniem leptyny, poziomem glikemii i odsetkiem hemoglobiny glikowanej w poszczególnych trymestrach ciąży na masę noworodka, wykazano istotny wpływ stężenia leptyny i glikemii w I trymestrze ciąży oraz odsetka hemoglobiny glikowanej w I trymestrze ciąży. Ponadto istotnym czynnikiem była także glikemia w III trymestrze ciąży.

Model analizujący wpływ stężeń leptyny i profilu lipidowego w poszczególnych trymestrach ciąży wykazał istotną zależność masy ciała noworodka od stężenia LDL w III trymestrze ciąży ($R^2=0,63192254$, $B=57,289$, $p<0,05$).

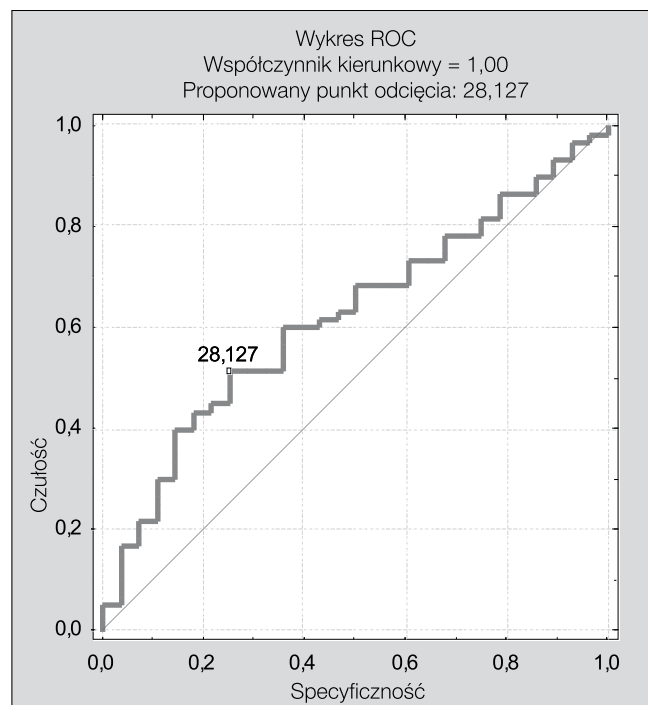
Natomiast model uwzględniający wartości czynników metabolicznych (glikemia, odsetek HbA1C, profil lipidowy) oraz wartości BMI ciężarnej z wszystkich trymestrów ciąży, bez uwzględniania stężenia leptyny w surowicy krwi, wykazał istotny wpływ BMI z II trymestru ciąży ($p<0,05$) oraz LDL z II trymestru ciąży ($p<0,05$) na masę urodzeniową noworodka. Poniższe dane przedstawiono w tabeli III.

Kolejnym etapem pracy była próba określenia przydatności poszczególnych parametrów opisujących wyrównanie metaboliczne w predykcji masy urodzeniowej noworodka powyżej 3600g w grupie ciężarnych z cukrzycą z wariantem homozygotycznym w zakresie -2548 G/A oraz 668 A/G.

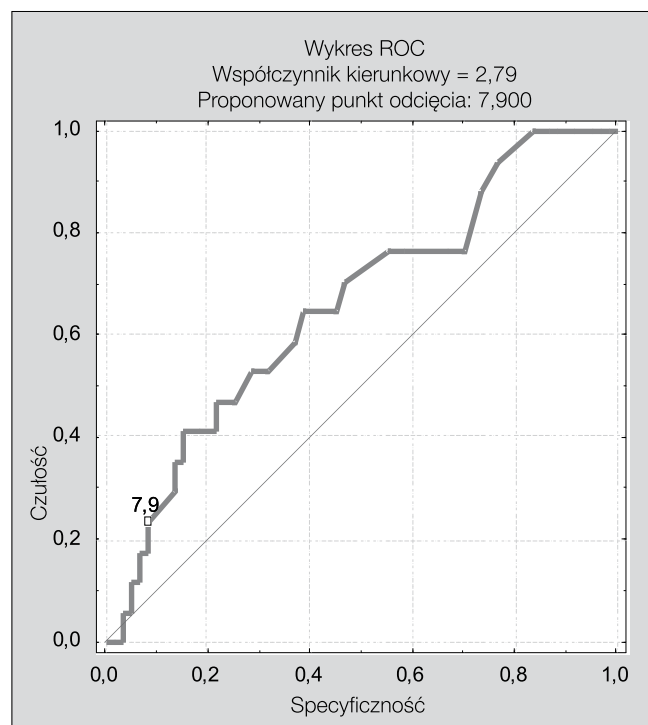
Analizy przeprowadzono dla wszystkich parametrów metabolicznych w każdym z trzech trymestrów ciąży.

Wyniki przedstawiono jako wykresy krzywych ROC, proponując optymalny punkt odcięcia dla poszczególnych wartości, wartość pola pod krzywą (AUC) oraz opisując dany test za pomocą parametrów takich jak czułość i specyficzność.

Wartość znamiennej prognostycznie wykazano dla: stężenia leptyny w I trymestrze ciąży, hemoglobiny glikowanej w III trymestrze ciąży oraz masy ciała ciężarnej w III trymestrze ciąży. Powyższe dane przedstawiono na wykresach I, II i III.

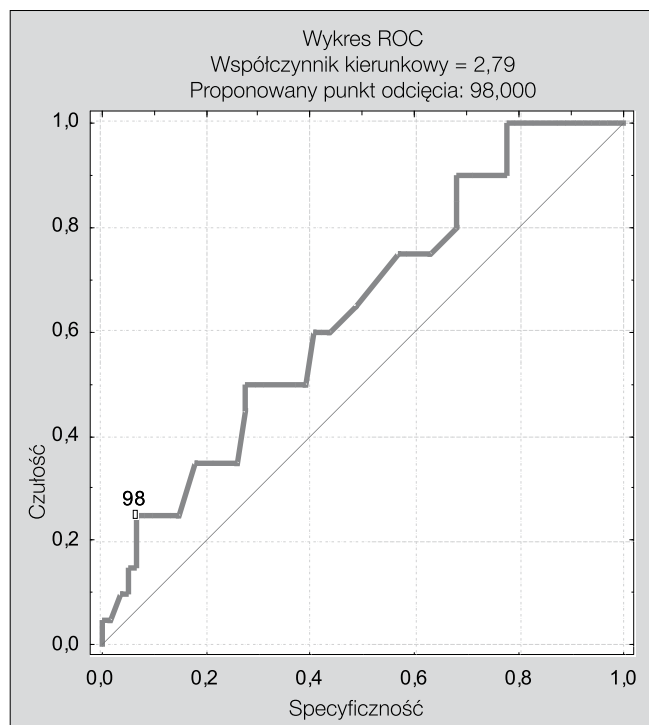


Wykres 1. Przydatność stężenia leptyny w I trymestrze ciąży w predykcji masy urodzeniowej noworodka >3600g. (AUC 0,62; czułość 0,75; specyficzność 0,5; **punkt odcięcia 28,127ng/ml**).



Wykres 2. Przydatność hemoglobiny glikowanej w III trymestrze ciąży w predykcji masy urodzeniowej noworodka >3600g (AUC 0,66; czułość 0,23; specyficzność 0,91; **punkt odcięcia 7,9%**).

Pozostałe parametry opisujące wyrównanie metaboliczne w tej podgrupie ciężarnych w każdym z trzech trymestrów ciąży cechowały się niską czułością i specyficznością, niższymi wartościami AUC i nie wykazały przydatności w prognozowaniu masy ciała noworodka.



Wykres 3. Przydatność masy ciała ciężarnej w III trymestrze ciąży w predykcji masy urodzeniowej noworodka >3600g (AUC 0,63; czułość 0,25; specyficzność 0,93; punkt odcięcia 98kg).

Dyskusja

Polimorfizm genetyczny związków aktywnych biologicznie jest powszechnym zjawiskiem występującym w przyrodzie. Z definicji polimorfizmem nazywa się zmiany, które występują u więcej niż 1% przypadków badanej populacji. W przeciwnym razie, gdy częstość ta jest mniejsza, zmiana taka nazywana jest mutacją [14].

Jednym z istotnych celów opieki położniczej nad kobietą ciężarną jest monitorowanie wzrastania płodu. W przedstawionej pracy wykazano, że spośród całej grupy 100 ciężarnych, u 30 z genotypem homozygotycznym, masa płodu (średnio 3600g) była istotnie wyższa w porównaniu do pozostałych ciężarnych z genotypami innymi niż homozygotyczne (średnio 3200g), stąd też podjęto próbę analizy, które czynniki metaboliczne mogą wpływać na masę płodu w tej podgrupie ciężarnych.

Ocenę przydatności wymienionych parametrów przeprowadzono dwuetapowo. W etapie pierwszym skonstruowano modele regresji z wieloma zmiennymi objaśniającymi, w których wykazano potencjalny wpływ niektórych z nich na masę płodu (zmienną objaśnianą) [15].

Drugim etapem było oszacowanie granicznych wartości dla wszystkich zmiennych i określenie potencjalnej ich przydatności w predykcji nadmiernej masy płodu za pomocą krzywej ROC. Najlepszym modelem regresji okazał się model obejmujący średnie stężenie leptyny, glukozy oraz odsetek hemoglobiny glikowanej we wszystkich badanych okresach ciąży. W grupie ciężarnych z genotypami homozygotycznymi, model ten wykazał wpływ stężenia leptyny, glikemii oraz odsetka hemoglobiny glikowanej w I trymestrze ciąży oraz glikemii w III trymestrze ciąży na masę urodzeniową noworodka.

Powszechnie znanym jest fakt niezwykle istotnego prawidłowego wyrównania metabolicznego w ciąży powikłanej cukrzycą w zapobieganiu nadmiernemu wzrastaniu płodu [16]. Odsetek hemoglobiny glikowanej powyżej 7,9% w III trymestrze ciąży u badanych ciężarnych, jak i masa ciężarnej powyżej 98kg w III trymestrze stanowiły punkty odcięcia, powyżej których wykazano wyższą (>3600g) masę płodu. Wykazano również, że wpływ na masę urodzeniową płodu mogło mieć podwyższone stężenie leptyny w I trymestrze ciąży, a wartość odcięcia wynosiła 28ng/ml. Warto podkreślić, że wszystkie punkty odcięcia opisywanych wartości w tej grupie charakteryzowały się wyższymi wartościami niż wartości średnie stwierdzone w odpowiadających im okresach ciąży. W dostępnym piśmiennictwie są dwie prace podejmujące próbę oceny wyrównania metabolicznego i masy płodu u ciężarnych w zależności od występującego genotypu w zakresie polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (SNP) genu leptyny i genu jej receptora [17, 18].

Wyniki Sourena i wsp. są zbieżne z obserwacjami stwierdzonymi w przedstawionej pracy – wykazano w niej, że w grupie ciężarnych z homozygotycznym genotypem w zakresie genu leptyny, masa urodzeniowa płodu była najwyższa. Natomiast ten sam homozygotyczny wariant GG polimorfizmu receptora leptyny był związany z wyższym stężeniem cholesterolu HDL [17]. Natomiast w pracy Adkinsa i wsp. także podjęto próbę oceny masy urodzeniowej w zależności od genotypu. Autorzy ci wykazali, że obecność allelu A wpływa na wzrost masy urodzeniowej noworodka płci żeńskiej oraz na niższą masę urodzeniową noworodka płci męskiej [18]. Z kolei badania Randa i wsp. nie wykazały różnicy w masie płodu w zależności od występującego genotypu leptyny i jej receptora [19]. Natomiast pracą opisującą związki polimorfizmu -2548 G/A w regulacji wzrastania płodu jest praca przeprowadzona na populacji czeskiej. Jej wyniki nie potwierdzają związku tego polimorfizmu z regulacją wzrastania płodu i wyrównania metabolicznego w przebiegu ciąży, a także nie wykazano w niej, aby w grupie ciężarnych z genotypami homozygotycznymi parametry metaboliczne miały istotny wpływ na wzrastanie płodu [20].

Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych analiz stwierdzono, że w grupie ciężarnych z wariantem homozygotycznym w zakresie LEP -2548 G/A oraz LEPR 668 A/G niektóre parametry metaboliczne rutynowo oceniane w przebiegu ciąży mają wpływ na masę urodzeniową noworodka.

Najlepszym modelem oceniającym wpływ tych czynników metabolicznych w tej grupie ciężarnych okazał się model obejmujący glikemię, HbA_{1c} oraz stężenie leptyny w poszczególnych trymestrach ciąży. Część z nich może mieć także wartość predykcyjną w prognozowaniu masy urodzeniowej noworodka w tej grupie ciężarnych.

Praca wykonana w ramach grantu N N407 2783 33

Piśmiennictwo

1. Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria. The DECODE study group. European Diabetes Epidemiology Group. Diabetes Epidemiology: Collaborative analysis Of Diagnostic criteria in Europe. *Lancet*. 1999, 354, 617-621.
2. Stenninger E, Schollin J, Aman J. Early postnatal hypoglycaemia in newborn infants of diabetic mothers. *Acta Paediatr*. 1997, 86, 1374-1376.
3. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, [et al.]. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994, 372, 425-432.
4. Thompson D, Ravussin E, Bennett P, [et al.]. Structure and sequence variation at the human leptin receptor gene in lean and obese Pima Indians. *Hum Mol Genet*. 1997, 6, 675-679.
5. Iciek R, Wender-Ożegowska E, Seremak-Mrozikiewicz A, [et al.]. Leptin gene, leptin gene polymorphisms and body weight in pregnant women with diabetes mellitus type I. *J Physiol Pharmacol*. 2008, 59, 19-31.
6. Baumann H, Morella K, White D, [et al.]. The full-length leptin receptor has signaling capabilities of interleukin 6-type cytokine receptors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996, 93, 8374-8378.
7. Iciek R, Wender-Ożegowska E, Seremak-Mrozikiewicz A, [i wsp.]. Leptyna, polimorfizmy genu leptyny i jej receptora a ciąża. *Ginekol Pol*. 2007, 78, 642-646.
8. Kim S, Kim S, Lee J, [et al.]. Association of leptin receptor polymorphisms Lys109Arg and Gln223Arg with serum leptin profile and bone mineral density in Korean women. *Am J Obstet Gynecol*. 2008, 198, e1-8.
9. Thomas L, Wallace J, Aitken R, [et al.]. Circulating leptin during ovine pregnancy in relation to maternal nutrition, body composition and pregnancy outcome. *J Endocrinol*. 2001, 169, 465-476.
10. Lea R, Howe D, Hannah L, [et al.]. Placental leptin in normal, diabetic and growth retarded pregnancies. *Mol Hum Reprod*. 2000, 6, 763-769.
11. Zacharova J, Chiasson J, Laakso M. Leptin Receptor Gene Variation Predicts Weight Change in Subjects with Impaired Glucose Tolerance. *Obes Res*. 2005, 13, 501-506.
12. Muy-Rivera M, Ning Y, Frederick I, [et al.]. Leptin, Soluble Leptin Receptor and Leptin Gene Polymorphism in Relation to Preeclampsia Risk. *Physiol Res*. 2005, 54, 167-174.
13. Vela-Huerta M, San Vicente-Santoscoy E, [et al.]. Leptin, insulin, and glucose serum levels in large-for-gestational-age infants of diabetic and non-diabetic mothers. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2008, 21, 17-22.
14. Crow J. Hardy, Weinberg and Language Impediments. *Genetics*. 1999, 152, 821-825.
15. Koronacki J, Ćwik J. Statystyczne systemy uczące się. Warszawa: Wydawnictwa Naukowo-Techniczne. 2005.
16. Hillema V, Suhonen L, Teramo K. Glycaemic control is associated with pre-eclampsia but not with pregnancy-induced hypertension in women with type I diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2000, 43, 1534-1539.
17. Souren N, Paulussen A, Steyls A, [et al.]. Common SNPs in LEP and LEPR associated with birth weight and type 2 diabetes-related metabolic risk factors in twins. *Int J Obes (Lond)*. 2008, 32, 1233-1239.
18. Adkins R, Klausner C, Magann E, [et al.]. Site -2548 of the leptin gene is associated with gender-specific trends in newborn size and cord leptin levels. *Int J Pediatr Obes*. 2007, 2, 130-137.
19. Rand L, Winchester E, Millwood I, [et al.]. Maternal leptin receptor gene variant Gln223Arg is not associated with variation in birth weight or maternal body mass index in UK and South Asian populations. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001, 25, 753-755.
20. Bienertova-Vasku J, Dostalova Z, Kankova K, [et al.]. Is there any link between severe pre-eclampsia and defined polymorphisms in leptin and adiponectin genes? *J Obstet Gynaecol Res*. 2008, 34, 858-864.



Zarząd Główny PTG
ogłasza

WYBORY przewodniczącego i Zarządu Sekcji Endoskopii PTG

Wybory odbędą się
w dniu **10 września o godz. 18.00**
w Hotelu „Król Kazimierz”
w Kazimierzu Dolnym podczas sympozjum
„Zaburzenia krzepnięcia
w ginekologii i położnictwie”

Prezes PTG
Prof. zw. dr hab. n. med. Ryszard Poręba