



Prédiction précoce du risque de diabète gestationnel : Développement de modèles combinant facteurs cliniques et marqueurs biochimiques

Mémoire

Sébastien Thériault

Maîtrise en médecine expérimentale
Maître ès sciences (M. Sc.)

Québec, Canada

© Sébastien Thériault, 2014

Résumé

Ce projet vise à développer un outil de prédiction précoce du risque de diabète gestationnel (DG).

Il est basé sur une étude de cohorte prospective chez 7929 femmes enceintes recrutées entre 2005 et 2010 dans la ville de Québec.

La validation externe de quatre modèles prédictifs a permis d'identifier des variables cliniques (ex. : antécédent de DG, indice de masse corporelle, histoire familiale de diabète) particulièrement performantes pour prédire le développement d'un DG nécessitant une insulinothérapie. Un modèle original combinant ces variables cliniques avec trois marqueurs biochimiques (HbA1c, SHBG et hsCRP entre 14 et 17 semaines de grossesse) a permis d'obtenir une aire sous la courbe ROC de 0,90 et une sensibilité de 72% à un taux de faux positifs de 10%.

Ce projet a permis d'identifier des facteurs prédictifs du DG identifiables tôt en grossesse afin de permettre une meilleure prise en charge des femmes à haut risque.

Abstract

This project aims to develop an early risk-prediction tool for gestational diabetes (GDM).

This is a case-control study from a prospective cohort including 7929 pregnant women recruited between 2005 and 2010 in the Quebec City metropolitan area.

External validation of four predictive models proposed in the literature allowed the identification of clinical variables (including past history of GDM, body mass index and family history of diabetes) performing particularly well for the prediction of GDM requiring insulin therapy. An original model combining some of these clinical variables with three readily available biochemical markers (HbA1c, SHBG and hsCRP measured between 14 and 17 weeks of gestation) yielded area under the ROC curve of 0.90 and sensitivity of 72% at a false-positive rate of 10%.

This project allowed the identification of predictive factors for GDM available early in pregnancy, which could improve the management of high risk women.

Table des matières

Résumé.....	iii
Abstract.....	v
Table des matières	vii
Liste des tableaux.....	ix
Liste des figures	xi
Liste des abréviations et des sigles.....	xiii
Remerciements.....	xv
Avant-propos	xvii
Chapitre 1 : Introduction.....	1
1.1 Diabète gestationnel.....	3
1.1.1 Définition.....	3
1.1.2 Épidémiologie.....	3
1.1.3 Physiopathologie	3
1.1.4 Facteurs de risque	4
1.1.5 Complications maternelles, foetales et néonatales	5
1.1.6 Effets à long terme chez la mère et son enfant.....	6
1.1.7 Coûts associés.....	7
1.1.8 Bénéfices d’une intervention précoce	7
1.1.9 Traitement.....	8
1.2 Dépistage et diagnostic du diabète gestationnel.....	9
1.2.1 Situation mondiale.....	9
1.2.2 Pratique actuelle au Canada.....	10
1.2.3 Identification précoce du DG	11
1.2.4 Algorithmes basés sur des facteurs de risque cliniques.....	12
1.2.5 Marqueurs biochimiques prometteurs	14
1.2.6 Combinaison de facteurs cliniques et marqueurs biochimiques.....	15
1.3 Hypothèse et objectifs	19
1.3.1 Hypothèse	19
1.3.2 Objectifs primaires	19
1.3.3 Objectifs secondaires.....	19
1.4 Résumé de la méthodologie	19

1.4.1 Devis et population	19
1.4.2 Collecte des données	22
1.4.3 Évaluation de la performance des modèles	22
1.5 Articles	23
Chapitre 2 : Validation of early risk-prediction models for gestational diabetes based on clinical characteristics	25
2.1 Résumé	27
2.2 Abstract	28
2.3 Introduction	29
2.4 Subjects	30
2.5 Materials and Methods	30
2.6 Results	32
2.7 Discussion	33
Chapitre 3 : Early prediction of gestational diabetes: A practical risk-assessment tool combining clinical and biochemical markers	45
3.1 Résumé	47
3.2 Abstract	48
3.3 Introduction	49
3.4 Materials and Methods	50
3.5 Results	53
3.6 Discussion	54
Chapitre 4 : Discussion et Conclusion	67
Bibliographie	73
Annexes	87
Annexe 1 : Approche pour le dépistage et le diagnostic du diabète gestationnel selon les lignes directrices 2008 de l'Association canadienne du diabète	88
Annexe 2 : Approche préférée pour le dépistage et le diagnostic du diabète gestationnel selon les lignes directrices 2013 de l'Association canadienne du diabète	89

Liste des tableaux

Tableau 1.1 : Caractéristiques des modèles basés sur des facteurs cliniques pour la prédiction du DG.....	13
Tableau 1.2 : Caractéristiques des modèles combinant des facteurs cliniques et des marqueurs biochimiques pour la prédiction du DG.....	17
Table 2.1 : Characteristics of studies using clinical risk-prediction models for GDM.....	37
Table 2.2 : Characteristics of study participants.....	38
Table 2.3 : Performance of the clinical risk-prediction models to identify women who developed GDM	39
Table 2.4 : Performance of the clinical risk-prediction models to identify women who developed GDM requiring insulin therapy.....	40
Table 2.5 : Performance of the clinical risk-prediction models in all subgroups.....	41
Table 3.1 : Characteristics of participants in the case-control study.....	59
Table 3.2 : Biomarkers measurements.....	61
Table 3.3 : Regression coefficients of the models chosen by stepwise analysis.....	62
Table 3.4 : Performance of the predictive models.....	63

Liste des figures

Figure 1.1 : Sélection des participantes.....	21
Figure 1.2 : Principales interventions durant le suivi de grossesse des participantes.....	24
Figure 2.1 : ROC curves of the clinical risk-prediction models for GDM in our cohort.....	42
Figure 2.2 : Prevalence of GDM in our cohort according to the risk score for three risk-prediction models.....	43
Figure 2.3 : Prevalence of GDM in our cohort according to the predicted probability with the model developed by van Leeuwen et al.....	44
Figure 3.1 : Flowchart of study participants.....	64
Figure 3.2 : ROC curves of the selected models combining maternal factors and biochemical markers for the prediction of GDM.....	65

Liste des abréviations et des sigles

ACOG :	American Congress of Obstetricians and Gynecologists
ADA :	American Diabetes Association
AIC :	Akaike information criterion
AUC :	Aire sous la courbe ROC
BMI :	Body mass index
CDA :	Association canadienne du diabète
DG :	Diabète gestationnel
FPR :	False-positive rate
GCT :	Test de tolérance au glucose de 50g (Glucose challenge test)
GDM :	Gestational diabetes mellitus
HAPO :	Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes
HDL :	Lipoprotéine de haute densité
HGOP :	Hyperglycémie orale provoquée
hPL :	Human placental lactogen
hsCRP :	Protéine C-réactive haute sensibilité
IADPSG :	International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups
HbA1c :	Hémoglobine glyquée
IGT :	Impaired glucose tolerance
IMC :	Indice de masse corporelle
LGA :	Poids élevé pour l'âge gestationnel (Large for gestational age)
LR- :	Negative likelihood ratio
LR+ :	Positive likelihood ratio
MODY :	Maturity onset diabetes of the young
NIH :	National Institutes of Health
NPV :	Valeur prédictive négative (Negative predictive value)
OGTT :	Oral glucose tolerance test
PAI-1 :	Plasminogen activator inhibitor-1
PAPP-A :	Pregnancy-associated plasma protein A
PPV :	Valeur prédictive positive (Positive predictive value)
PSA :	Antigène prostatique spécifique
RC :	Rapport de cote
Se :	Sensibilité
SHBG :	Sex hormone binding globulin
SOPK :	Syndrome des ovaires polykystiques
Sp :	Spécificité
TNF α :	Facteur de nécrose tumorale alpha
WG :	Weeks of gestation

Remerciements

Je tiens d'abord à remercier mon directeur de recherche, Dr Yves Giguère, et mon co-directeur, Dr Jean-Claude Forest, pour leur support, leur disponibilité et surtout la confiance portée à mon égard.

Je veux aussi souligner la contribution des autres co-auteurs des articles : Dr Joël Girouard qui a entre autres rendu possible le dosage des biomarqueurs et Dr Jacques Massé dont l'expertise et les connaissances en biostatistique se sont avérées indispensables.

Je remercie également toute l'équipe du centre de recherche du CHU de Québec à l'Hôpital St-François d'Assise, particulièrement Nathalie Bernard pour sa disponibilité et son efficacité.

Le projet n'aurait pas été possible sans le travail rigoureux des assistants de recherche et des infirmières qui ont participé au recrutement des participantes et à l'élaboration de la banque de données.

Le projet a été supporté par les Instituts de recherche en santé du Canada (IRSC), dans le cadre du programme *Healthy Pregnancy Initiative from the Institute for Human Development, Child and Youth Health*.

Finalement, un merci spécial à mes parents, mon frère Martin et Laura pour leur écoute et leur support au quotidien.

Avant-propos

Le présent mémoire contient deux articles dont je suis l'auteur principal. Le premier article, intitulé « *Validation of early risk-prediction models for gestational diabetes based on clinical characteristics* », est signé par trois autres auteurs : Dr Jean-Claude Forest, Dr Jacques Massé et Dr Yves Giguère. Dr Yves Giguère, mon directeur de recherche, est médecin biochimiste et chercheur au CHU de Québec. Il est boursier du *Fonds de Recherche du Québec – Santé (FRQ-S)* et travaille principalement sur les complications de grossesse. Dr Jean-Claude Forest, mon co-directeur de recherche, est médecin biochimiste et chercheur au CHU de Québec. Il est impliqué depuis plus de 25 ans dans les programmes de dépistage en grossesse. Dr Jacques Massé est médecin biochimiste au CHU de Québec et possède une expertise particulière en biostatistique et dans l'élaboration de modèles prédictifs.

Pour cet article, j'ai conçu l'étude, analysé et interprété les données et écrit la version originale du manuscrit. L'article a été publié dans la revue *Diabetes Research and Clinical Practice* (Référence : Theriault S, Forest JC, Masse J, Giguere Y. Validation of early risk-prediction models for gestational diabetes based on clinical characteristics. *Diabetes research and clinical practice*. 2014 Mar;103(3):419-25.).

Le second article, intitulé « *Early prediction of gestational diabetes: A practical risk-assessment tool combining clinical and biochemical markers* » est signé par les mêmes auteurs et par Dr Joël Girouard. Dr Girouard est médecin biochimiste et chef du service de biochimie au CHU de Québec.

Pour cet article, j'ai participé à la conception de l'étude et au choix des marqueurs, à l'analyse et l'interprétation des données et j'ai rédigé la version originale du manuscrit. L'article a été soumis pour publication à la revue *Clinical Chemistry* le 20 mai 2014.

Seules des modifications mineures (adaptation au format du mémoire) ont été apportées aux deux articles.

Chapitre 1 : Introduction

Introduction

Le diabète gestationnel (DG), défini par l'apparition ou la découverte d'une intolérance au glucose pendant la grossesse (1), représente une cause importante de complications de grossesse (2). En utilisant les critères diagnostiques traditionnels, la prévalence du DG varie généralement entre 2 et 6 % dans les pays développés (3). L'augmentation de l'âge maternel et du taux de surpoids/obésité dans la population, combinée à l'augmentation de l'immigration de populations à risque élevé, entraîne un nombre croissant de cas de DG (4, 5).

Le DG est associé à des risques plus élevés de complications périnatales et au développement à long terme de maladies chroniques (diabète, hypertension, maladie cardiovasculaire) chez la mère et son enfant (6-9). Parmi les issues défavorables de grossesse causées par le DG, on retrouve la pré-éclampsie, l'accouchement par césarienne et la macrosomie, lesquelles influencent la morbidité et la mortalité chez le nouveau-né (2). La macrosomie, touchant environ 30% des grossesses avec DG (10), entraîne de nombreuses complications telles que la dystocie des épaules, les traumatismes du plexus brachial, la détresse respiratoire du nouveau-né et la morbidité maternelle (7, 11, 12). Le fardeau économique engendré par le traitement du DG et de ses complications est considérable, avec une augmentation entre 25 et 35% des coûts en soins de santé liés à la grossesse chez les femmes atteintes (13-15).

Au Canada, la plupart des femmes sont dépistées pour le DG par un test de tolérance au glucose de 50g (GCT) entre 24 et 28 semaines de grossesse. Celles qui ont un résultat positif sont invitées à subir une hyperglycémie orale provoquée (HGOP) avec une charge de glucose de 75g, considérée comme le test diagnostique (16, 17). À la suite d'un résultat positif, des actions sont entreprises, incluant un suivi rapproché et des traitements appropriés. Cependant, comme le diagnostic se fait habituellement au troisième trimestre, plusieurs grossesses affectées par le DG demeurent non détectées pendant une longue période, entraînant des complications sévères (18, 19). La détection précoce par un dépistage efficace est donc primordiale afin de permettre des interventions ciblées dont les bénéfices chez les femmes à risque sont bien documentés (20-23). Parmi ces interventions, on retrouve des changements simples des habitudes de vie (concernant surtout la diète et

l'exercice physique) et la prise de médication (insuline et/ou hypoglycémisants oraux) selon la sévérité de la maladie (24). L'identification précoce des femmes à risque afin de permettre la mise en place de mesures préventives ciblées pourrait avoir un impact significatif sur la réduction des complications associées au DG.

1.1 Diabète gestationnel

1.1.1 Définition

Le *diabète mellitus* regroupe un ensemble d'anomalies métaboliques caractérisées par un désordre de la tolérance au glucose entraînant une hyperglycémie; ce trouble résulte de défauts dans la sécrétion de l'insuline, son action ou la production de glucose (25). Le diabète gestationnel (DG) est défini traditionnellement par l'apparition ou la découverte d'une intolérance au glucose pendant la grossesse (1). Cette définition s'applique même si l'intolérance au glucose était présente avant la grossesse ou persiste après celle-ci.

1.1.2 Épidémiologie

La prévalence du DG chez les femmes enceintes varie grandement, allant de < 1% à 28% dans différentes populations, et dépend des stratégies utilisées pour son dépistage et son diagnostic (26). Elle est généralement estimée entre 2% et 6% dans la plupart des pays développés (3, 27). Au Canada, la prévalence est estimée autour de 4% chez les non Autochtones et 13 % chez les Autochtones (28, 29). Plusieurs études suggèrent que la prévalence est en constante augmentation dans les pays développés (5, 30), incluant le Canada où une augmentation de 80% a été observée entre 1985 et 2004 (31). La tendance vers un âge maternel plus avancé, l'épidémie d'obésité et la diminution de l'activité physique représentent autant d'explications proposées pour expliquer ce phénomène (30). L'augmentation de l'immigration provenant de régions où la prévalence de DG est plus élevée pourrait aussi être responsable du nombre croissant de cas de DG observés au Canada (4). Le dépistage systématique de même que l'observance de la population à celui-ci pourraient aussi être impliqués.

1.1.3 Physiopathologie

Le diabète gestationnel résulte de l'incapacité des cellules bêta des îlots pancréatiques à augmenter la sécrétion d'insuline pour compenser la résistance à l'insuline liée à la

grossesse (32). En effet, à la mi-grossesse, un état hyperglycémique est induit physiologiquement par les hormones sécrétées par le placenta et l'hypophyse de la mère afin de favoriser le développement fœtal. Sécrétée autour de la 20^e semaine de grossesse, l'hormone de croissance placentaire (*placental growth hormone*) semble être le déterminant majeur de l'insulinorésistance maternelle, agissant en combinaison avec une augmentation du facteur de nécrose tumorale alpha (*tumor necrosis factor alpha*, TNF α), du cortisol libre et de la progestérone en plus d'une diminution de l'adiponectine. Cette insulinorésistance est normalement contrée par une augmentation de la production d'insuline, médiée entre autres par l'augmentation de la prolactine et du *human placental lactogen* (hPL) (33).

Il existe des données suggérant qu'un certain degré d'insulinorésistance est présent avant la grossesse dans la plupart des cas de DG. Lorsque comparées avant ou après leur grossesse à des femmes ayant une tolérance normale au glucose, les femmes développant un DG ont une plus faible sensibilité à l'insuline et une sécrétion inadéquate d'insuline pour leur degré d'insulinorésistance (34, 35). La grossesse aurait pour effet de révéler ces défauts en augmentant le degré d'insulinorésistance au point où les cellules bêta ne peuvent plus compenser pour maintenir une glycémie normale (36). Ces hypothèses sont corroborées par plusieurs études qui montrent des augmentations légères de l'insulinémie à jeun (37) et de la glycémie (38-40) en début de grossesse (entre 6 et 14 semaines) chez les femmes qui développent un DG. Enfin, le DG représente un trouble hétérogène et polygénique qui partage des caractéristiques génétiques avec le diabète de types 1 et 2 et le *maturity onset diabetes of the young* (MODY) (41, 42).

1.1.4 Facteurs de risque

Plusieurs facteurs de risque du DG ont été identifiés et font maintenant partie des recommandations de dépistage (17, 43, 44). Selon une revue récente de Galtier (45), les facteurs non modifiables non reliés à la grossesse sont l'âge maternel, l'histoire familiale de diabète de type 2 (rapport de cotes (RC) de 1,58 à 3,03), l'origine ethnique (asiatique, Premières Nations), le poids de naissance maternel, la taille maternelle (la prévalence diminue avec la taille) et le syndrome des ovaires polykystiques (RC de 2,44 à 2,94). Les facteurs obstétricaux comprennent la grossesse gémellaire (RC de 2,2), un antécédent de DG (récurrence de 30% à 84% (46)), de macrosomie fœtale (47) ou de mort fœtale *in utero*

lors d'une grossesse antérieure. Les facteurs de risque modifiables sont l'obésité, le gain de poids entre les grossesses (48) et durant le premier trimestre (49) ainsi que des facteurs socioéconomiques comme l'éducation. Une association a également été observée entre la consommation de boissons gazeuses avant la grossesse et le risque de DG (50). L'activité physique avant et durant la grossesse est un facteur protecteur (51).

1.1.5 Complications maternelles, foetales et néonatales

Les complications maternelles du DG comprennent des taux plus élevés d'accouchement par césarienne en lien avec un plus haut risque de macrosomie fœtale et de dystocie du travail (6). Le DG augmente aussi le risque de prééclampsie, entraînant un risque plus élevé de morbidité et de mortalité maternelles (52). Ces risques sont particulièrement importants chez les femmes avec surpoids ou obèses (6). Il y a aussi une relation modeste mais significative entre l'hyperglycémie et le risque de prématurité (6).

Les études ont rapporté de façon consistante une incidence plus élevée de malformations fœtales (cardiovasculaires, musculo-squelettiques et nerveuses) chez les enfants nés d'une femme avec DG, même si une partie de l'augmentation pourrait être due à la présence d'un diabète de type 2 non diagnostiqué (7). Le risque de malformation fœtale augmente avec l'indice de masse corporelle (IMC) maternel et le degré d'hyperglycémie (7).

La macrosomie, définie comme un poids de naissance au-dessus de 4000 ou 4500g, ou le poids élevé pour l'âge gestationnel (LGA), défini comme un poids supérieur au 90^e ou au 97^e percentile de la population pour un âge gestationnel donné, sont des complications fréquentes du DG. Jusqu'à 30% des enfants nés de grossesses avec DG ont un poids supérieur au 90^e percentile (10). La macrosomie est en partie secondaire à l'hyperinsulinisme fœtal entraîné par l'hyperglycémie maternelle, l'insuline agissant comme un facteur de croissance chez le fœtus (53). En effet, une corrélation a été rapportée entre le poids de naissance et la concentration de glucose et d'insuline dans le liquide amniotique chez les femmes avec DG à partir de 14 semaines de grossesse (54, 55). La macrosomie augmente le risque de dystocie des épaules, d'atteinte du plexus brachial (12), d'accouchement par césarienne, de mortalité néonatale (principalement par asphyxie), d'aspiration méconiale, d'hypoglycémie néonatale et de détresse respiratoire (7, 56). La

détresse respiratoire, la prématurité et l'accouchement par césarienne amènent une augmentation du taux d'admission à l'unité des soins intensifs néonataux (57). Le taux de mortalité fœtale et périnatale est aussi augmenté dans les cas de DG selon certaines études (7).

Les patientes atteintes de DG plus sévère nécessitant une insulinothérapie ont un risque plus élevé de complications telles que la macrosomie, l'accouchement par césarienne et l'hypoglycémie néonatale (58).

L'étude *Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes* (HAPO), une large étude populationnelle (n = 23 316), a montré une association forte et continue entre la glycémie maternelle et l'hyperinsulinémie fœtale, le poids de naissance, le taux d'accouchement par césarienne et l'hypoglycémie néonatale (59).

1.1.6 Effets à long terme chez la mère et son enfant

Le risque de récurrence du DG se situe entre 30% et 84% (46, 60). Des études rétrospectives et longitudinales ont montré que le DG représente une manifestation précoce d'une susceptibilité à développer des problèmes de santé plus tard dans la vie pour la mère et son enfant. Une revue systématique récente montre que le DG augmente le risque de diabète de type 2, de syndrome métabolique et de maladie cardiovasculaire par des facteurs respectifs de 7X, 2 à 5X et 1,7X pour une période allant jusqu'à 20 ans après la grossesse (8). Une étude de suivi menée en Israël a révélé une incidence de 16% de diabète 10 ans après la grossesse chez les femmes développant un DG, en comparaison avec 1% dans le groupe témoin (61). Des évidences indiquent que l'exposition fœtale à l'hyperglycémie maternelle entraîne une homéostasie anormale du glucose, une augmentation de la pression artérielle et une augmentation du tour de taille chez l'enfant (62, 63). À l'âge adulte, le risque de diabète de type 2 ou de prédiabète (anomalie de la glycémie à jeûn ou intolérance au glucose) augmente de quatre à huit fois (64). Un article de revue récent confirme l'augmentation de diabète de type 2, obésité, hypertension et syndrome métabolique chez l'enfant, même si d'autres facteurs de risque comme l'obésité maternelle peuvent aussi être impliqués (9).

1.1.7 Coûts associés

Le DG et ses complications génèrent un fardeau significatif sur le système de santé. En se basant sur des données américaines recueillies en 2007, Chen et al. ont estimé les coûts excédentaires des soins périnataux reliés au DG à 3 514 US\$ par grossesse (augmentation de 25%) (13). Étant donné l'incidence du DG aux États-Unis, les coûts associés au DG représenteraient 636 millions US\$ annuellement. Des augmentations de coûts allant de 25 à 34% ont également été observées dans des études de cohortes en Finlande et en Irlande (65, 66). Les coûts excédentaires sont principalement attribuables aux visites prénatales, à la prééclampsie, à l'accouchement par césarienne et à l'admission de l'enfant à l'unité des soins intensifs néonataux. Les coûts à long terme reliés à l'utilisation du système de santé sont également augmentés chez les femmes atteintes de DG qui développent un diabète de type 2 après la grossesse, représentant deux fois le coût annuel généré par une femme en santé 10 ans après l'accouchement (67).

1.1.8 Bénéfices d'une intervention précoce

Des données récentes suggèrent qu'une intervention diététique précoce et un programme d'activité physique peuvent réduire le risque de développer un DG et ses complications, malgré qu'il n'y ait pas encore d'étude avec suffisamment de puissance pour fournir une réponse définitive (68). Deux revues systématiques et méta-analyses ont montré les bénéfices de conseils nutritionnels et d'un programme d'exercice physique en début de grossesse pour réduire l'incidence de DG et de macrosomie (23, 69). Chez une population à haut risque sélectionnée par un outil de prédiction du risque (basé sur l'âge maternelle, l'IMC, l'origine ethnique, l'histoire familiale de diabète et les antécédents de DG), Harrison et al. (70) ont observé une réduction du gain de poids gestationnel et une tendance vers une plus faible incidence de DG avec des interventions visant à changer les habitudes de vie durant le deuxième trimestre. Une étude randomisée chez des femmes avec un IMC > 25 à la première visite prénatale a montré une importante réduction de l'incidence de DG (29% vs 6%) dans le groupe recevant une intervention multidisciplinaire anténatale débutant à la première visite prénatale (71). Chez des femmes avec un antécédent de DG nécessitant une insulinothérapie, Maher et al. (72) ont démontré qu'un programme d'intervention débuté à la première visite prénatale, comprenant une diète avec indice glycémique faible ainsi que le suivi de la glycémie et un traitement avec de l'insuline au

besoin, diminue l'incidence de macrosomie d'environ 20% (en comparaison avec la grossesse précédente).

1.1.9 Traitement

Deux larges études d'intervention ont démontré que le diagnostic et le traitement du DG léger à l'aide de conseils nutritionnels, du suivi de la glycémie et d'insuline au besoin réduisent de manière significative plusieurs issues adverses de grossesse sans effet néfaste (20, 22). Ces études montrent une diminution des complications périnatales sévères, de la macrosomie, de la prééclampsie et du gain de poids maternel durant la grossesse. Une revue systématique et méta-analyse incluant ces deux études randomisées a conclu que le traitement du DG diminue les risques de complications périnatales, plus spécifiquement la dystocie des épaules (21). Dans une autre revue systématique évaluant des femmes enceintes avec hyperglycémie ne rencontrant pas les critères diagnostiques du DG, les mêmes interventions ont entraîné une réduction de la macrosomie sans augmenter les accouchements par césarienne ou le recours à des instruments lors de l'accouchement vaginal (73).

L'essentiel du traitement du DG repose sur des interventions simples, soit le plus souvent des conseils nutritionnels et des interventions diététiques. Lorsque le diagnostic est établi, le programme nutritionnel consiste en un suivi de l'apport calorique total et de la proportion de glucides, un fractionnement des apports en glucides et une diète avec indice glycémique faible enrichie en fibres. Chez les femmes obèses ou avec surpoids atteintes de DG, la restriction calorique semble améliorer le contrôle glycémique et limiter le gain de poids (2, 24).

Pour les femmes qui n'atteignent pas les cibles de traitement avec les interventions diététiques, l'insuline a longtemps été la seule médication utilisée puisqu'elle ne traverse pas le placenta, ce qui limite les risques de tératogénicité. L'utilisation d'hypoglycémifiants oraux, comme la metformine ou le glyburide, reste encore à être validée dans de larges cohortes de femmes enceintes, la possibilité d'effets néfastes à long terme n'ayant pas encore été complètement éliminée (24, 74, 75).

Après la grossesse, les femmes qui développent un DG devraient subir une HGOP avec 75g de glucose de 6 semaines à 6 mois après la grossesse pour évaluer leur tolérance au glucose (17). Des interventions intensives pour modifier les habitudes de vie et la prise de metformine peuvent prévenir le développement du diabète de type 2 selon une étude randomisée qui a montré une réduction allant jusqu'à 50% (76).

1.2 Dépistage et diagnostic du diabète gestationnel

1.2.1 Situation mondiale

Il existe une grande variabilité dans les programmes de dépistage et les critères diagnostiques du DG à travers le monde (77). Une série de protocoles basés sur des critères cliniques, la glycémie à jeun, un test de tolérance au glucose de 50g (GCT) et/ou une HGOP de 75 ou 100g sont mis en place. Il existe encore une controverse à savoir si une approche universelle est préférable à une approche sélective et si une méthode en une étape (HGOP seulement) est supérieure à une approche en deux étapes (GCT suivie de HGOP) en termes de coût-efficacité (78).

En 2008, une conférence internationale a été organisée par *l'International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups* (IADPSG) à la suite des résultats de l'étude HAPO pour statuer sur une stratégie de dépistage et des critères diagnostiques qui pourraient être utilisés partout dans le monde afin de standardiser les pratiques. Les recommandations suivantes ont été émises en 2010 : 1) Dépister toutes les femmes ou seulement celles à haut risque (selon la prévalence des anomalies du métabolisme du glucose dans la population) pour la présence de diabète préexistant à la première visite prénatale avec soit une glycémie à jeun ($\geq 7,0$ mmol/L), une hémoglobine glyquée (HbA1c, $\geq 6,5\%$) ou une glycémie au hasard ($\geq 11,1$ mmol/L); diagnostiquer un DG si la glycémie à jeun est $\geq 5,1$ mmol/L; 2) Faire une HGOP de 75g entre 24 et 28 semaines de grossesse chez toutes les femmes non déjà diagnostiquées (approche en une étape); diagnostiquer un DG si une valeur dépasse les seuils suivant : 5,1, 10,0 et 8,5 mmol/L à 0, 1 et 2h respectivement (79).

Toutefois, ces recommandations sont fortement débattues et ont été critiquées par plusieurs auteurs, surtout en raison de la subjectivité des seuils proposés, du fait que l'étude HAPO était observationnelle et non une étude d'intervention et de l'importante augmentation de la

prévalence de DG que l'application des recommandations de l'IADPSG entraînerait, avec les coûts qui y sont associés, sans suffisamment d'évidence d'amélioration des issues de grossesse (80-85). Alors que l'Association américaine du diabète (ADA) a adopté les recommandations de l'IADPSG, l'*American Congress of Obstetricians and Gynecologists* (ACOG) recommande toujours une approche en deux étapes avec une HGOP de 100g pour poser le diagnostic (86, 87). Une déclaration de consensus récente par la *National Institute of Health* (NIH) conclut qu'il n'y a pas suffisamment de données probantes pour justifier une approche en une étape avec les seuils proposés par l'IADPSG, vu l'augmentation de la prévalence de DG qui s'ensuivrait ainsi que les coûts et les interventions correspondantes, sans démonstration claire d'une amélioration dans les issues cliniquement importantes pour la santé des patientes (88).

1.2.2 Pratique actuelle au Canada

Les lignes directrices de l'Association canadienne du diabète (CDA) affirment que le dépistage universel est supérieur à une approche sélective basée sur la présence de facteurs de risque et que toutes les femmes devraient être dépistées pour le DG entre 24 et 28 semaines de grossesse. De plus, les femmes avec plusieurs facteurs de risque devraient se voir offrir un dépistage à n'importe quel moment durant la grossesse. Les facteurs de risque mentionnés sont : antécédent de DG, prédiabète, origine ethnique à risque (aborigène, hispanique, asiatique, africaine), âge ≥ 35 ans, IMC ≥ 30 kg/m² à la première visite, syndrome des ovaires polycystiques (SOPK), acanthosis nigricans, utilisation de corticostéroïdes, antécédent de macrosomie, macrosomie ou polyhydramnios lors de la grossesse actuelle. La CDA suggère comme test de dépistage le test de tolérance au glucose de 50g (GCT) non à jeun consistant en une mesure de la glycémie une heure après la charge en glucose (17).

Jusqu'à récemment, les lignes directrices canadiennes recommandaient de poser le diagnostic de DG si le résultat du GCT était $\geq 10,3$ mmol/L sans test supplémentaire (Annexe 1) (16). Les nouvelles lignes directrices 2013 recommandent maintenant de poser le diagnostic à partir d'un résultat $\geq 11,1$ mmol/L (Annexe 2) (17). Lorsque le résultat est $< 7,8$ mmol/L, la femme est considérée comme ayant une tolérance normale au glucose, et il n'est pas nécessaire d'effectuer une HGOP.

Les femmes avec un résultat entre 7,8 et 11,0 mmol/L (entre 7,8 et 10,2 mmol/L en 2008) sont invitées à subir une HGOP de 75g dans les jours suivant le GCT. L'HGOP doit se faire à jeun et requiert des mesures de glycémie à 0h, 1h et 2h après la charge en glucose. Les limites supérieures ont été fixées à 5,3, 10,6 et 9,0 mmol/L respectivement dans les lignes directrices 2013 (la valeur à 2h est passée de 8,9 mmol/L en 2008 à 9,0 mmol/L en 2013). Une seule valeur au-dessus du seuil suffit maintenant pour diagnostiquer un DG (contrairement à deux en 2008). Le diagnostic d'intolérance au glucose en grossesse (correspondant à une seule valeur au-dessus du seuil en 2008) a été éliminé des lignes directrices de 2013.

Les seuils choisis dans les lignes directrices de 2013 se basent en partie sur l'étude HAPO; plutôt que de choisir les seuils correspondant à un risque relatif de complications de 1,75, la CDA a choisi ceux correspondant à un risque relatif de 2,0, tel que suggéré par Ryan (89) et appuyé par Visser et al. (90). Bien que l'approche privilégiée soit celle décrite précédemment, les lignes directrices mentionnent aussi l'approche proposée par l'IADPSG (une seule étape) comme une approche alternative.

1.2.3 Identification précoce du DG

Des études ont conclu que les femmes diagnostiquées plus tôt en grossesse, même en ayant davantage de facteurs de risque, développent moins de complications comme le polyhydramnios, la prématurité et la macrosomie fœtale (91-93). Cependant, d'autres études ont rapporté plus de complications maternelles et périnatales chez les femmes atteintes de DG précoce (94, 95). Il n'y a aucune étude prospective randomisée comparant un dépistage et un diagnostic précoces avec le protocole standard dans une population générale. La principale barrière est le manque de standardisation dans les procédures de dépistage et de diagnostic du DG tôt en grossesse. Selon un article de revue récent, la proportion estimée de DG diagnostiqués avant 24 semaines (à partir d'approches basés sur les facteurs de risque) se situe entre 15 et 20% (18).

Quelques tests ont été proposés pour permettre le diagnostic d'un diabète préexistant en début de grossesse. Bien qu'elles soient physiologiquement abaissées en début de grossesse (96, 97), la glycémie à jeun et l'HbA1c sont recommandés par l'IADPSG pour

diagnostiquer un diabète préexistant, avec les mêmes seuils utilisés pour diagnostiquer un diabète en dehors de la grossesse (79).

Pour ce qui est de prédire le développement du DG plus tard en grossesse, les glycémies à jeun et postprandiale ont une faible spécificité (98). Faire une HGOP chez toutes les femmes en début de grossesse aurait des inconvénients majeurs : le test est souvent mal toléré (plus de nausées en début de grossesse), le besoin de répéter le test entre 24 et 28 semaines s'il est négatif amène une faible observance (99), les seuils diagnostiques n'ont pas été validés et le test a de faibles spécificité et valeur prédictive positive (100).

Il n'existe donc pas à l'heure actuelle de méthode efficace et reconnue pour identifier tôt en grossesse les femmes qui développeront un diabète gestationnel.

1.2.4 Algorithmes basés sur des facteurs de risque cliniques

Tel que décrit plus-haut, plusieurs facteurs de risque maternels sont associés au DG. L'intégration de ces facteurs de risque, qui peuvent être évalués tôt en grossesse, dans un modèle prédictif a été effectuée par quelques équipes de recherche (Tableau 1.1) (101-105). La plupart de ces outils utilisent comme variables prédictives l'âge maternel, l'origine ethnique, l'IMC, l'histoire familiale de diabète et les antécédents de DG. La performance observée dans ces études est toutefois insuffisante pour permettre leur application en clinique, avec des aires sous la courbe ROC (AUC) variant de 0,64 à 0,83.

D'autres auteurs ont évalué l'association entre les caractéristiques maternelles et le besoin de traitement médical (insuline) chez les femmes atteintes de DG (106-109). L'IMC, les antécédents de DG et l'histoire familiale de diabète semblent être les meilleurs prédicteurs de l'échec du traitement nutritionnel.

Tableau 1.1 : Caractéristiques des modèles basés sur des facteurs cliniques pour la prédiction du DG

Étude	Méthodologie	Facteurs de risque	Se (%)	Sp (%)	AUC
Naylor et al. (1997) (101)					
	Cohorte de 3131 femmes Groupe de validation : 1571 femmes (69 DG) Test diagnostique : HGOP 100g (toutes)	Âge maternel (0 à 2) IMC (0 à 3) Ethnicité (0 à 5)	75,4 59,4	56,5 74,4	0,729
Caliskan et al. (2004) (103)					
	Cohorte de 4612 femmes (143 DG) Groupe de validation : 422 femmes (14 DG) Dépistage avec GCT Test diagnostique : HGOP 100g (toutes)	Âge maternel \geq 25 ans IMC \geq 25 kg/m ² Antécédent issue adverse grossesse Histoire familiale de diabète Antécédent macrosomie foetale	85,7 57,1	64,5 86,3	0,833
van Leeuwen et al. (2010) (104)					
	Cohorte de 995 femmes (24 DG) Dépistage avec GCT Test diagnostique : HGOP 75g (certaines) Prédiction des cas de DG manqués Probabilité de DG calculée	IMC Ethnicité Histoire familiale de diabète Antécédent de DG	75,0 45,8	58,0 88,4	0,770
Teede et al. (2011) (105)					
	Cohorte de 4276 femmes (356 DG) Groupe de validation : 1396 femmes (106 DG) Dépistage avec GCT Test diagnostique : HGOP 75g (certaines)	Âge maternel (0 à 2) IMC (0 à 2) Ethnicité (0 à 2) Histoire familiale de diabète (0 à 1) Antécédent de DG (0 à 2)	83,9 61,3	39,0 71,4	0,703

Se : sensibilité; Sp : spécificité

1.2.5 Marqueurs biochimiques prometteurs

En plus des facteurs de risque, plusieurs marqueurs biochimiques pouvant jouer un rôle dans la physiopathologie du DG, pour la plupart impliqués dans les mécanismes liés à l'insulinorésistance ou à l'inflammation chronique ont été étudiés pour prédire le DG.

L'hémoglobine glyquée (HbA1c) est produite par la glycation non enzymatique de l'hémoglobine et reflète les concentrations en glucose à moyen terme (période d'environ 120 jours) (110). Elle est stable et sa mesure est maintenant standardisée (111). En raison du renouvellement plus rapide des globules rouges et de la diminution de la glycémie en début de grossesse, l'HbA1c est plus basse à ce moment qu'en dehors de la grossesse (97). Des seuils spécifiques pour la grossesse n'ont pas été déterminés. Toutefois, quelques études ont montré que l'HbA1c est augmentée dès le premier trimestre chez les femmes qui développent un DG (112, 113). L'HbA1c a également été suggérée comme un prédicteur de la nécessité de recourir à l'insulinothérapie chez les femmes avec DG (106-108).

La Sex hormone binding globulin (SHBG) est une glycoprotéine produite par le foie qui lie les hormones sexuelles et permet leur transport dans le sang. Elle a été associée avec la résistance à l'insuline et le développement du diabète de type 2 (114). La SHBG est considérée comme un marqueur d'hyperinsulinisme et a été plus récemment associée à la présence de dépôts de gras au foie (115). Des niveaux plus bas de SHBG ont été observés dès le premier trimestre chez les femmes qui développent un DG (116, 117), particulièrement celles qui nécessitent un traitement avec de l'insuline (118).

De plus en plus de données supportent l'hypothèse que l'inflammation a un lien causal avec la résistance à l'insuline et la détérioration des cellules bêta (119-121). Des concentrations plus élevées de protéine C-réactive, mesurée par un test de haute sensibilité (hsCRP), ont d'ailleurs été observées chez les femmes avec DG dès le premier trimestre, mais seulement quelques études ont rapporté des augmentations indépendantes de la masse adipeuse et de l'IMC maternels (122-124).

Plusieurs adipokines (cytokines relâchées par le tissu adipeux) circulant dans le sérum, comme TNF α , ont des effets pro-inflammatoires reconnus et stimulent la production de protéines de phase aiguë impliquées dans la coagulation, comme le plasminogen activator

inhibitor-1 (PAI-1) (125). D'autres adipokines, comme l'*adiponectine*, ont plutôt un effet anti-inflammatoire (126). Ces marqueurs sont autant d'autres candidats potentiels qui se sont avérés modifiés chez les femmes avec DG dans certaines études (127-134).

Le *récepteur soluble de la pro-rénine*, un biomarqueur qui reflète l'activation tissulaire du système rénine-angiotensine, et la *fibronectine glycosylée*, une glycoprotéine ayant subi une glycosylation intracellulaire, pourraient également prédire le développement du DG au premier trimestre (135, 136).

D'autres marqueurs, incluant la *pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A)*, la *visfatine*, la *resistine* et l'*interleukin-6* ont été investigués chez les femmes atteintes de DG, mais peu de données sont disponibles et les résultats sont contradictoires (133, 134, 137).

Il existe d'autres marqueurs potentiels influencés par l'effet postprandial, la diète, la supplémentation et les variations saisonnières, comme le glucose, l'insuline, le bilan lipidique, la 25-hydroxyvitamine D et la leptine. Ces marqueurs ne seront pas discutés plus amplement puisque le but de l'étude est de développer un modèle pratique et applicable dans le contexte clinique actuel (prélèvements non à jeun).

1.2.6 Combinaison de facteurs cliniques et marqueurs biochimiques

Dans les dernières années, des modèles prédictifs combinant des facteurs cliniques et des marqueurs biochimiques ont été étudiés (Tableau 1.2). À partir de la même cohorte provenant du Royaume-Uni, Savvidou et al., Nanda et al. et Ferreira et al. ont obtenu une sensibilité allant de 50 à 68% à un taux de faux positifs de 10% et des AUC entre 0,81 et 0,87 (123, 138, 139) en combinant des facteurs de risque maternels et des marqueurs biochimiques (cholestérol HDL, *tissue plasminogen activator*, adiponectine, SHBG) et visfatine) mesurés entre 11 et 13 semaines de grossesse. L'ajout des marqueurs biochimiques, particulièrement l'adiponectine et la SHBG, améliorerait la performance des modèles. Plus récemment, Lovati et al. ont combiné un modèle de prédiction du risque basé sur des facteurs maternels et la PAPP-A mesurée au premier trimestre pour obtenir une AUC de 0,70 chez des femmes nullipares (140). En utilisant une combinaison de caractéristiques maternelles et le récepteur soluble de la pro-rénine mesuré avant 14 semaines de grossesse, Watanabe et al. a obtenu une AUC de 0,79 (136). Enfin, dans une

étude incluant 90 femmes ayant développé un DG, Rasanen et al. ont rapporté une AUC de 0,91 entre 5 et 13 semaines de grossesse avec un seul marqueur, la fibronectine glycosylée, mais ces résultats devront être répliqués par des études de plus grande envergure (135).

Il apparaît donc nécessaire de mener d'autres études indépendantes à grande échelle pour confirmer la transférabilité et la pertinence clinique d'un modèle prédictif basé sur des paramètres cliniques et biochimiques.

Aucune étude jusqu'à maintenant n'a évalué la performance d'un modèle prédictif pour le DG nécessitant une insulinothérapie.

Tableau 1.2 : Caractéristiques des modèles combinant des facteurs cliniques et des marqueurs biochimiques pour la prédiction du DG

Étude	Méthodologie	Marqueurs cliniques et biochimiques	Combinaison	Sensibilité (%) – taux de FP de 10%	AUC
Savvidou et al. (2010) (123)*					
	124 cas DG 248 témoins Âge gestationnel : 11-13 sem Étude cas-témoins Régression logistique	Âge maternel, IMC, ethnie, parité, tabagisme, tension artérielle, antécédent DG, histoire familiale Db	<u>Toutes les grossesses</u>		
			Facteurs maternels (FM) seuls	ND	0,824
			FM + HDLchol	ND	0,843
		Lipides, hs-CRP, GGT adiponectine, E-selectin, tissu plasminogen activator (t-PA)	FM + t-PA	ND	0,853
			FM + HDLchol + t-PA	ND	0,861
			<u>Sans antécédent DG</u>		
FM + HDLchol + t-PA	ND	0,806			
Nanda et al. (2011) (138)*					
	80 cas DG 300 témoins Cohorte de 11464 femmes (297 DG) Âge gestationnel : 11-13 sem Étude cas-témoins Régression logistique	Âge maternel, IMC, ethnie, antécédent DG, antécédent macrosomie, histoire familiale Db, tabagisme, méthode de conception	<u>Toutes les grossesses</u>		
			Facteurs maternels (FM) seuls	52,9	0,788
			FM + Adiponectine	56,2	0,831
			FM + SHBG	54,2	0,808
		Adiponectine, SHGB, follistatin-like-3	FM + Adiponectine + SHBG	58,6	0,842
			<u>Sans antécédent DG</u>		
			FM + Adiponectine + SHBG	50,4	0,806
			<u>Avec antécédent DG</u>		
FM + Adiponectine + SHBG	65	0,865			
Ferreira et al. (2011) (139)*					
	100 cas DG 300 témoins Âge gestationnel : 11-13 sem Étude cas-témoins Régression logistique	Âge maternel, IMC, ethnie, parité, antécédent DG, tabagisme	Facteurs maternels (FM) seuls	58	0,828
			FM + Adiponectine	66	0,854
			FM + Visfatine	64	0,825
		Visfatine, adiponectine	FM + Visfatine + Adiponectine	68	0,855

Étude	Méthodologie	Marqueurs cliniques et biochimiques	Combinaison	Sensibilité (%) – taux de FP de 10%	AUC
Lovati et al. (2013) (140)					
	307 cas DG (nullipares) 366 témoins (nullipares) Âge gestationnel : 11-14 sem Étude cas-témoins Régression logistique	Âge maternel, IMC, histoire familiale Db (1er degré) PAPP-A	FM seulement		0,601
			FM + PAPP-A		0,702
Watanabe et al. (2013) (136)					
	44 cas DG Cohorte de 716 femmes Âge gestationnel < 14 sem Étude de cohorte (prospective) Régression logistique	Âge maternel, parité, IMC, tabac, alcool, histoire familiale Db ou hypertension méthode de conception, hypertension, asthme, maladie rénale, hyper/hypothyroïdie, maladie auto-immune, glycémie au hasard, tension artérielle Récepteur soluble de la pro-rénine (s(P)RR)	s(P)RR seul	ND	0,705
			FM + s(P)RR	ND	0,787
Rasanen et al. (2013) (135)					
	90 cas DG 92 témoins Âge gestationnel : 5-13 sem Étude cas-témoins Régression logistique	Âge maternel, âge gestationnel au prélèvement, Nulliparité Fibronectine glycosylée, adiponectine, hsCRP, placental lactogen	Fibronectine glycosylée	81	0,910
			Adiponectine	28	0,630
			hsCRP	16	0,680
			Placental lactogen	14	0,670
			Combinaison des 4 marqueurs	ND	0,920

* Études provenant de la même cohorte (King's College Hospital, United Kingdom).

ND : Non disponible

1.3 Hypothèse et objectifs

1.3.1 Hypothèse

L'hypothèse principale est que la combinaison de facteurs cliniques et de marqueurs biochimiques sélectionnés permettra le développement d'un outil pratique pour la prédiction précoce du risque de développer un DG.

1.3.2 Objectifs primaires

- Valider, dans une cohorte de femmes québécoises, les modèles basés sur des caractéristiques cliniques proposés récemment dans la littérature pour identifier les femmes ayant développé un diabète gestationnel (chapitre 2).
- Développer un modèle original combinant des facteurs cliniques et des marqueurs biochimiques mesurés entre 14 et 17 semaines de grossesse pour la prédiction du risque de survenue d'un diabète gestationnel (chapitre 3).

1.3.3 Objectifs secondaires

- Évaluer la performance des modèles basés sur des caractéristiques cliniques proposés récemment dans la littérature pour identifier les femmes atteintes de diabète gestationnel nécessitant une insulinothérapie (chapitre 2).
- Développer un modèle original combinant des facteurs cliniques et des marqueurs biochimiques mesurés entre 14 et 17 semaines de grossesse pour la prédiction du risque de survenue d'un diabète gestationnel nécessitant une insulinothérapie (chapitre 3).

1.4 Résumé de la méthodologie

1.4.1 Devis et population

L'étude est basée sur une cohorte de 7929 femmes enceintes recrutées prospectivement lors de leur première visite prénatale (Figure 1.1). Les patientes ont été recrutées entre 2005 et 2010 dans les deux sites du CHU de Québec où la totalité des accouchements hospitaliers se déroulent dans la région de Québec, soit le Centre hospitalier de l'Université Laval et l'Hôpital St-François d'Assise. Le protocole a été approuvé par le comité d'éthique du CHU de Québec. Les critères d'éligibilité étaient d'être âgées de 18 ans ou plus et de ne pas

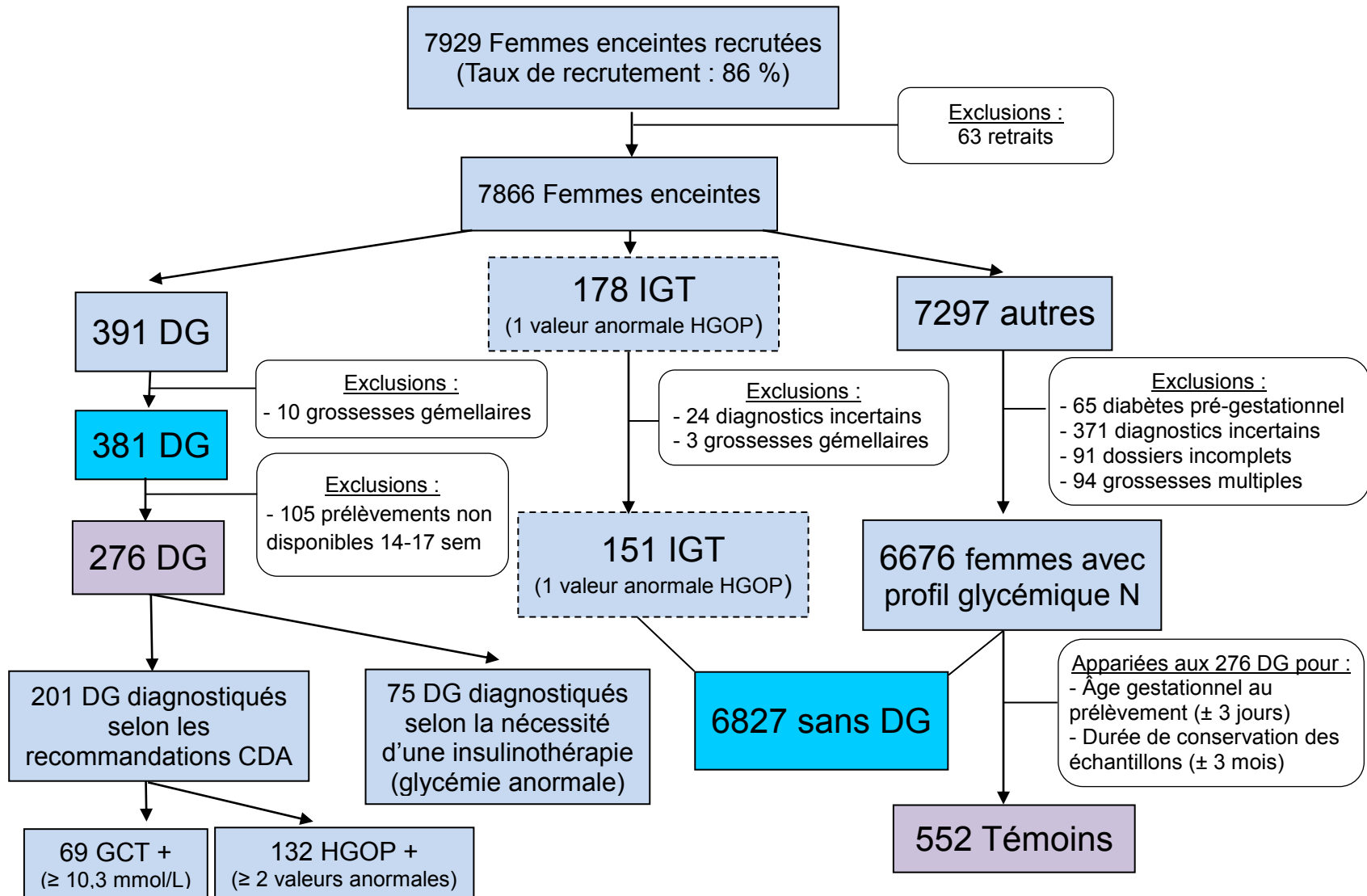
souffrir d'une maladie rénale ou hépatique. Les cas de diabète pré-gestationnel, les grossesses gémellaires, les accouchements avant 32 semaines de grossesse en l'absence d'un test de dépistage ou diagnostique pour le DG et les diagnostics incertains en raison d'informations incomplètes ont été exclus.

Le diagnostic de DG a été fait selon les lignes directrices 2008 de l'Association canadienne du diabète (Annexe 1) (16). Parmi les 7208 femmes incluses, 381 femmes ont développé un DG (Figure 1.1), parmi lesquelles 259 DG ont été diagnostiqués à la suite du dépistage systématique : 87 sur la base d'un résultat franchement anormal après une charge en glucose de 50g ($\geq 10,3$ mmol/L) et 172 sur la base de deux résultats ou plus excédant les seuils établis lors d'une hyperglycémie orale provoquée (75g de glucose). Un diagnostic de DG a aussi été établi chez un autre groupe de 122 femmes qui ont reçu de l'insuline pour la première fois durant leur grossesse. Ce groupe était formé de patientes pour qui les tests de dépistage et/ou diagnostique étaient soit non effectués, non disponibles ou à la limite supérieure de la normale et chez qui des résultats anormaux lors d'un suivi de la glycémie a mené à l'introduction d'une insulinothérapie durant la grossesse. Un diagnostic d'intolérance au glucose pendant la grossesse a été posé chez 151 femmes (une seule valeur excédant les seuils à l'HGOP).

Pour le développement des modèles combinant facteurs cliniques et marqueurs biochimiques, seules les patientes ayant eu leur première visite à l'institution entre 14 et 17 semaines de grossesse ont été retenues. Cet intervalle comprenait la majorité des prélèvements disponibles (276/381, 72%) et a été considéré optimal pour détecter une différence entre les femmes normoglycémiques et celles atteintes de DG ainsi que pour une implantation clinique éventuelle (coïncide avec les programmes de dépistage actuels, dont celui de la trisomie 21).

276 femmes atteintes de DG ont ainsi été sélectionnées (Figure 1.1). Chacune d'elles a été appariée à 2 témoins en utilisant l'âge gestationnel (± 3 jours) et le temps de conservation du prélèvement sanguin (± 3 mois) comme critères d'appariement.

Figure 1.1 : Sélection des participantes



1.4.2 Collecte des données

Lors de leur première visite prénatale, avant 20 semaines de grossesse, toutes les femmes éligibles étaient invitées à signer un formulaire de consentement et à fournir un prélèvement sanguin à des fins de recherche (le taux de recrutement a été de 86 %). Les prélèvements (sang total, sérum ou plasma), non à jeun, étaient placés immédiatement à 4°C, centrifugés moins de 2 heures après le prélèvement et le sérum était aliquoté, étiqueté et conservé à -80°C. Au moment du test de dépistage du diabète gestationnel (entre 24 et 28 semaines), les participantes complétaient un questionnaire auto-administré pour la collecte d'informations sociodémographiques et médicales sur les facteurs de risque du DG. Des questions validées sur la santé, les mesures anthropométriques et les habitudes alimentaires ont été utilisées. Après l'accouchement, les dossiers médicaux étaient révisés pour compléter l'information clinique. La Figure 1.2 résume les principales interventions (cliniques et de recherche) durant le suivi de grossesse des participantes dans la cohorte.

1.4.3 Évaluation de la performance des modèles

La performance des modèles a été évaluée en termes de sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive (PPV) et négative (NPV) et aire sous la courbe ROC (AUC). La sensibilité évalue la capacité d'un test à identifier une condition donnée. Elle représente la proportion d'individus ayant la maladie qui ont un test positif. La spécificité évalue la capacité d'un test à exclure une condition donnée. Elle représente la proportion d'individus sains qui ont un test négatif. Le taux de faux positifs représente la proportion d'individus avec la maladie qui ont un test négatif (un moins la spécificité). La PPV représente la probabilité qu'un individu soit atteint de la maladie si le test est positif alors que la NPV représente la probabilité qu'un individu soit sain si le test est négatif. La PPV et la NPV dépendent des performances du test, mais aussi de la prévalence de la maladie.

Dans le cadre d'un test de dépistage, on recherche généralement un test avec une sensibilité et une NPV élevées de façon à identifier tous les individus atteints. Une spécificité et une PPV adéquates permettent aussi de limiter le nombre de faux positifs et ainsi d'éviter des investigations inutiles. Un test de deuxième ligne quant à lui doit avoir d'excellentes spécificité et PPV pour confirmer la maladie. Dans le cadre de ce projet visant à identifier précocement les femmes à risque de diabète gestationnel, un modèle à la fois sensible et

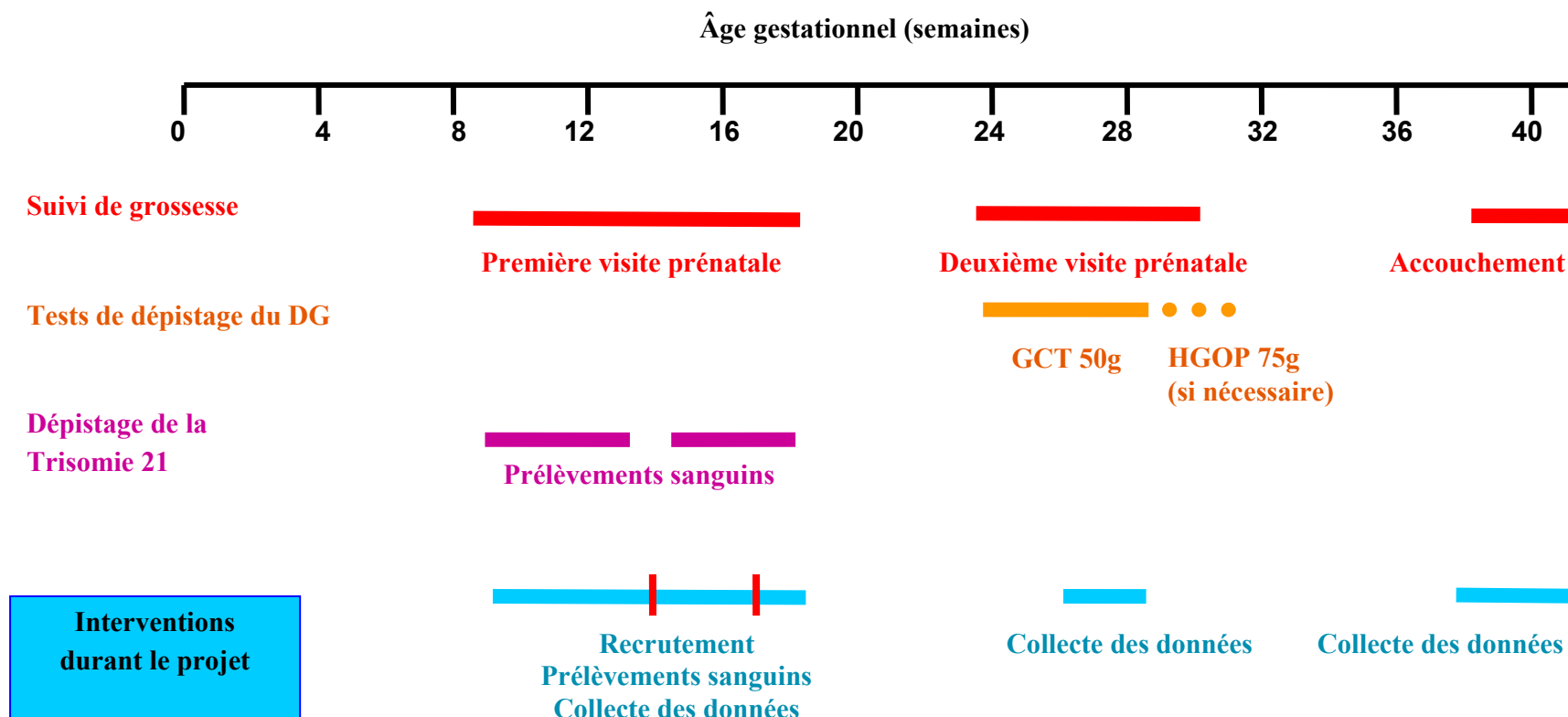
spécifique est recherché. Il s'agit d'identifier précocement une proportion importante des femmes à risque, mais également de limiter les interventions chez celles qui ne le sont pas. Le programme de dépistage actuel entre 24 et 28 semaines permettrait tout de même d'identifier les femmes développant un DG, limitant ainsi l'impact d'un résultat faussement négatif en utilisant le modèle développé.

La courbe ROC est une représentation graphique de la sensibilité en fonction du taux de faux positifs. La surface sous la courbe ROC (AUC), aussi appelée statistique c, représente la probabilité d'obtenir un résultat plus élevé pour un individu atteint de la maladie que pour un individu sain. Elle permet de comparer la performance de différents tests ou modèles avec une mesure qui tient compte à la fois de la sensibilité et de la spécificité (141). Une prédiction faite complètement au hasard (par exemple en lançant une pièce de monnaie) donnerait une AUC de 0,50 alors qu'un test avec une discrimination parfaite donnerait une AUC de 1,00. Il est généralement considéré qu'un test n'a pas de valeur clinique lorsque l'AUC est plus petite que 0,60, a une valeur limitée entre 0,60 et 0,70, a une valeur modeste entre 0,70 et 0,80, et a une validité clinique potentielle lorsqu'au-dessus de 0,80 (142). À titre d'exemple, l'antigène prostatique spécifique (PSA) a une AUC autour de 0,70 pour l'identification d'un cancer de la prostate (143) alors que la troponine I a une AUC entre 0,90 et 0,95 pour le diagnostic de l'infarctus du myocarde (144, 145).

1.5 Articles

Deux articles ont été produits dans le cadre de cette étude globale concernant le diabète gestationnel. Le premier (chapitre 2) consiste en une étude de validation des modèles prédictifs de la littérature basés sur des caractéristiques cliniques. Le second (chapitre 3) combine certains des facteurs cliniques identifiés avec des marqueurs biochimiques mesurés entre 14 et 17 semaines de grossesse afin de développer un modèle prédictif original.

Figure 1.2 : Principales interventions durant le suivi de grossesse des participantes



Lignes verticales rouges : moment du prélèvement des participantes sélectionnées pour l'étude cas-témoins (entre 14 et 17 semaines).

Chapitre 2 : Validation of early risk-prediction models for gestational diabetes based on clinical characteristics

Theriault S, Forest JC, Masse J, Giguere Y. Validation of early risk-prediction models for gestational diabetes based on clinical characteristics. *Diabetes research and clinical practice*. 2014; 103(3):419-25.

Validation of early risk-prediction models for gestational diabetes based on clinical characteristics

Thériault Sébastien MD ^{1,2}, Forest Jean-Claude MD ^{1,2}, Massé Jacques MD ^{1,2}, Giguère Yves MD ^{1,2}

¹ CHU de Québec Research Center, 10 rue de l'Espinay, Quebec City, QC, Canada, G1L 3L5

² Département de biologie moléculaire, biochimie médicale et pathologie, Faculté de médecine, Université Laval, 1050 avenue de la Médecine, Quebec City, QC, Canada, G1V 0A6

Corresponding author

Yves Giguère, MD, PhD, CHU de Québec Research Center, Hôpital St-François d'Assise, 10, rue de l'Espinay, Quebec city, QC, Canada, G1L 3L5

yves.giguere@crsfa.ulaval.ca

Telephone: 1-418-525-4444 ext. 53712

Fax: 1-418-525-4195

Funding: Canadian Institutes of Health Research (CIHR) Healthy Pregnancy Initiative Program.

2.1 Résumé

Cette étude vise à valider les modèles basés sur des caractéristiques cliniques proposés récemment dans la littérature pour identifier précocement les femmes à risque de développer un diabète gestationnel (DG).

Il s'agit d'une étude de cohorte chez 7929 femmes enceintes recrutées entre 2005 et 2010 dans la ville de Québec.

L'application des quatre modèles prédictifs proposés a permis d'obtenir des aires sous la courbe ROC (AUC) variant de 0,68 à 0,76 pour l'identification des femmes ayant développé un DG. Le modèle le plus performant, basé sur l'origine ethnique, l'indice de masse corporelle, l'histoire familiale de diabète et les antécédents de DG, a permis d'obtenir une AUC de 0,82 pour le DG nécessitant une insulinothérapie.

La validation dans une large cohorte de femmes québécoises de modèles prédictifs basés uniquement sur des caractéristiques cliniques a permis d'obtenir une performance modérée, mais particulièrement prometteuse pour détecter les cas de DG nécessitant une insulinothérapie.

2.2 Abstract

Objective: Gestational diabetes (GDM) is generally diagnosed late in pregnancy, precluding early interventions to prevent its complications. This study aims to validate, in a large Caucasian population of pregnant women, models based on clinical characteristics proposed in the literature to identify, early in pregnancy, those at high risk of developing GDM.

Methods: This is a cohort study including 7,929 pregnant women recruited prospectively at their first prenatal visit. Clinical information was obtained by a self-administered questionnaire and extraction of data from the medical records. The performance of four proposed clinical risk-prediction models was evaluated for identifying women who developed GDM and those who required insulin therapy.

Results: The four models yielded areas under the receiver operating characteristic curve (AUC) between 0.668 and 0.756 for the identification of women who developed GDM, a performance similar to those obtained in the original studies. The best performing model, based on ethnicity, body-mass index, family history of diabetes and past history of GDM, resulted in sensitivity, specificity and AUC of 73% (66 – 79), 81% (80 – 82) and 0.824 (0.793 – 0.855) respectively for the identification of GDM cases requiring insulin therapy.

Conclusions: External validation of four risk-prediction models based exclusively on clinical characteristics yielded a performance similar to those observed in the original studies. In our cohort, the strategy seems particularly promising for the early prediction of GDM requiring insulin therapy. Addition of recently proposed biochemical markers to such models has the potential to reach a performance justifying clinical utilization.

2.3 Introduction

Gestational diabetes mellitus (GDM) is traditionally defined as the onset or first recognition of glucose tolerance disorder during pregnancy (16, 146). Prevalence of GDM in pregnant women varies widely from < 1 to 28% in different populations and is highly dependent on the screening and diagnosis strategies used (26, 45, 79). It is estimated to be around 4% in Canada (29) and between 2 and 8% in Europe (26). The rising of both maternal age and rate of overweight/obesity lead to an escalating number of GDM cases (30).

GDM is associated with increased rates of obstetric and neonatal complications such as preeclampsia, cesarean delivery, neonatal hypoglycemia and macrosomia (6, 7). It is well recognized that lifestyle changes and treatment with insulin or hypoglycemic agents can reduce the risks of these adverse outcomes (20, 22). Accumulating evidence also links GDM with later emergence of obesity, type-2 diabetes and metabolic syndrome in the woman and her offspring (8, 9), all known risk factors for cardiovascular disease.

In Canada, screening for GDM is currently a universal two-step process. Women are screened at 24-28 weeks of gestation (WG) with an oral 50g glucose challenge test (GCT) and those with positive results are then submitted to a 2 hour 75g oral glucose tolerance test (OGTT) for diagnosis (16, 17). The International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG) recently recommended a new approach: screening high-risk women for overt diabetes at the first prenatal visit and performing a 75g OGTT at 24–28 WG in all pregnant women (79). These recommendations are being strongly debated (80, 81, 85), but GDM is nevertheless diagnosed late in pregnancy in most existing screening programs.

Numerous GDM risk factors have been recognized and are included in clinical practice recommendations (17, 43, 44, 86). The most important ones are maternal age, ethnicity, body mass index (BMI), family history of diabetes, past history of GDM, previous delivery of a macrosomic infant and multiple pregnancy (45).

Several authors have proposed clinical risk-prediction tools based on these risk factors available early in pregnancy to identify women at high risk of developing GDM (101, 103-105), but not specifically for those requiring insulin therapy. This cohort study aims to

validate, in a large Caucasian population, the performance of these models for identifying women who developed GDM and those who required insulin therapy in order to improve risk stratification and facilitate follow up and prevention.

2.4 Subjects

This is a cohort study including 7,929 pregnant women recruited prospectively at their first prenatal visit (before 20 WG) between March 2005 and April 2010 in the Quebec City metropolitan area. Women were eligible if they were at least 18 years old and without renal and hepatic disease.

Exclusion criteria for the present study were pregestational diabetes (n=65), multiple pregnancy (n=107), uncertain diagnosis (absence of screening and/or diagnostic tests and gestational age at delivery unknown or before 32 WG, n=395) and delivery outside of our centers (n=91). Data from 63 patients were removed from the databank at their request.

2.5 Materials and Methods

After giving written consent, the 7,929 participants followed a well-defined protocol authorized by the Institutional Ethics Review Board. Between 24 and 28 WG, they completed a self-administered questionnaire allowing the collection of socio-demographic and biomedical information on various health risk factors. We have used validated questions on health (147, 148) and dietary habits (149, 150). Anthropometric measurements have been determined as described earlier (148, 150). After delivery, the medical records were reviewed to complete clinical information, including the use of insulin therapy during pregnancy. According to practice guidelines (16), insulin therapy was initiated if, within 2 weeks, nutrition therapy alone did not allow to attain the following glycemic targets: fasting glucose < 5.3 mmol/L, 1-hour post-prandial glucose < 7.8 mmol/L and 2-hour post-prandial glucose < 6.7 mmol/L.

GDM diagnosis was established according to the recommendations provided by the Canadian Diabetes Association in 2008 (16) (50g GCT in all women followed by 75g OGTT if GCT between 7.8 and 10.2 mmol/L). Among the 381 women with GDM who were included, 87 were diagnosed based on the result of the GCT (≥ 10.3 mmol/L) alone and 172 were diagnosed after the OGTT (≥ 2 values exceeding the thresholds of 5.3, 10.6

and 8.9 mmol/L at 0, 1 and 2 hour respectively). We also used the information retrieved in the medical records to establish another GDM subgroup of 122 women who received insulin during pregnancy without undergoing an OGTT. This group consisted of patients for whom 1) the screening and diagnostic tests were either not performed, results were unavailable or borderline, and 2) frankly abnormal results on glucose monitoring led to the decision to start insulin therapy during pregnancy. This allowed us to identify all women with severe GDM and mitigate the false negative rate of the GCT. Finally, 151 women were diagnosed with impaired glucose tolerance (IGT) after the OGTT (1 value exceeding the thresholds).

Table 2.1 summarizes the methodology and risk-scoring systems used in the four predictive models that were evaluated (101, 103-105). Risk factors included in the models were maternal age, BMI, ethnicity, family history of GDM, past history of GDM, macrosomic infant and adverse obstetric outcomes. The models were developed in populations from Canada, Turkey, Netherlands and Australia. Risk factors were selected after multivariate logistic regression and different strategies were used for the weighting of each factor. Naylor et al. used the rounded adjusted odd ratios (101); Caliskan et al. assigned a score of one to all risk factors that remained significant in logistic regression (103); van Leeuwen et al. used the equation of the logistic regression model modified by a shrinkage factor to calculate the probability of GDM (104); Teede et al. used the rounded log of the adjusted odd ratios (105).

The performance of the four models was evaluated for identifying women who developed GDM. We also evaluated the capacity of the models to identify GDM cases who required insulin therapy, dietary intervention only and participants who developed IGT.

Statistical analyses

Characteristics of the participants who developed GDM (n = 381) were compared to the rest of the study cohort (n = 6827) using Student t test for continuous variables and Chi-square or Fisher exact test for categorical variables. Differences were considered significant at $P < 0.05$ (two-sided). The risk score or probability for each participant was calculated according to the scoring system described in each model (101, 103-105) (Table 2.1). The

contribution of each factor to the difference in the total score between cases and controls was examined. Sensitivity, specificity, positive and negative predictive values (PPV, NPV), positive and negative likelihood ratios (LR+, LR-) for predicting GDM and the need for insulin therapy along with their 95% confidence interval (CI) were determined for different thresholds. Performance at the threshold maximizing the Youden index (sensitivity/100 + specificity/100 – 1) is reported, as we seek a sensitive and specific model to allow targeted interventions. Areas under the receiver operating characteristic curves (AUC) with their 95% CI were calculated. For GDM cases requiring dietary intervention only and IGT cases, the ability to discriminate from controls only was evaluated (the other participants with GDM were excluded from the analysis). The prevalence of GDM for each risk score was compared graphically with the distribution obtained in the original studies. Participants with missing data on any of the clinical characteristics in a specific model were excluded. We performed statistical analyses using the Statistical Package of Social Sciences, version 19 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

2.6 Results

Table 2.2 shows the principal characteristics of the cohort, which was predominantly of Caucasian origin (> 96%). Three hundred eighty-one participants (381) developed GDM (5.3%), among which 253 required insulin therapy (64.4%). Women who developed GDM were older and had higher BMI before pregnancy and at the first prenatal visit (before 20 WG). The proportions of women with familial history of diabetes, past history of GDM and previous macrosomic infant were higher in the GDM group.

Applying the four risk-prediction models to our cohort resulted in AUC ranging from 0.668 to 0.756 for identifying women who developed GDM (Table 2.2 and Figure 2.1). The most performing model was the one developed by van Leeuwen et al. (104), which is based on ethnicity, family history of diabetes, past history of GDM and BMI. At the threshold maximizing the Youden index, sensitivity, specificity, PPV, NPV, LR+ and LR- were respectively 60.4 % (54.3 – 66.1), 80.7 % (79.6 – 81.8), 14.9 % (12.9 – 17.1), 97.3% (96.8 – 97.8), 3.13 (2.80 – 3.49) and 0.49 (0.43 – 0.57). Compared to the original studies, only the model developed by Teede et al. (105) yielded a better performance in our cohort, although confidence intervals overlapped largely. The only significant difference was found

for the model used by Caliskan et al. (103) that originally showed a better performance (0.680 vs 0.833) (Table 2.3).

The prevalence of GDM increased with an increasing risk score for the four models (Figures 2.2 and 2.3), although the distribution of GDM cases among the risk scores was different from the original studies. The threshold maximizing the Youden index was lower in our cohort for the risk scores developed by Naylor et al. (101) (3 vs 4 points) and Teede et al. (105) (3 vs 4 points) and identical for the model from Caliskan et al. (103) (2 points). The threshold could not be compared for the model developed by van Leeuwen et al. (104) (data not available from the original study).

Noteworthy, the models performed better for identifying women with GDM who required insulin therapy. The model from van Leeuwen et al. (104) gave an AUC of 0.824 (0.793 – 0.855) (Table 2.3) and sensitivity, specificity, PPV, NPV, LR+ and LR- were respectively 72.8% (65.9 – 78.8), 80.6% (79.5 – 81.7), 12.5% (10.7 – 14.6), 98.7% (98.3 – 99.0), 3.75 (3.39 – 4.16) and 0.34 (0.27 – 0.42) at the optimal threshold (Table 2.4). For women with GDM treated with dietary interventions only and IGT, the models were less accurate, with AUC ranging between 0.551 and 0.605 (Table 2.5).

2.7 Discussion

In this study, using a large cohort of pregnant Caucasian women, we performed an external validation of four risk-prediction models of GDM based exclusively on clinical characteristics. The four models yielded a performance similar to those observed in the original studies for identifying women who developed GDM, with AUC from 0.668 to 0.756. The strategy performed better for the early prediction of GDM requiring insulin therapy with AUC up to 0.824.

Among the risk factors included in the models, five were statistically different between women who developed GDM and those who did not in our cohort, namely maternal age, BMI (before pregnancy or at the first prenatal visit), familial history of diabetes (first and/or second degree), past history of GDM and previous macrosomic infant. Based on the model by Teede et al. (105), which included four of those five risk factors, the strongest predictors of GDM in our cohort were, in decreasing order, past history of GDM, BMI,

familial history of diabetes and maternal age, representing respectively 51%, 21%, 17% and 10% of the difference in the total score between cases and controls.

There were no differences for ethnicity, since the vast majority of women were of Caucasian origin (> 95%). Previous recurrent spontaneous abortions and fetal death ≥ 20 WG were also similar between groups but the prevalence was very low (< 2%).

When applied to our cohort, we observed a trend toward poorer performance in three of the four models compared to the original cohort, although this was significant only for the model proposed by Caliskan et al (103). These variations can be attributed to differences in characteristics of the population, prevalence of GDM and diagnostic criteria used. Since risk factors in the models were weighted according to a specific logistic regression equation, validation in a different population is expected to yield lower performance. Our population was almost entirely Caucasian which can partly explain the lower optimal thresholds that we observed. Maternal age was also lower in our cohort than in the studies from Naylor et al. (101), van Leeuwen et al. (104) and Teede et al. (105), while it was higher than in Caliskan et al.'s study (103). In the Australian cohort included in the model developed by Teede et al. (105), BMI and the rate of family history of diabetes were higher. Globally, the Netherlands cohort studied by van Leeuwen et al.(104) was the one that most closely approximated ours. Prevalence of GDM was also slightly different in our cohort (5.3%) compared to the original studies (between 2.4 and 7.6%). The four studies used either a 3 hour 100g OGTT (Naylor et al. (101) and Caliskan et al. (103)) or a 2 hour 75g OGTT with thresholds different than ours (van Leeuwen et al. (104) and Teede et al. (105)). We also included a subgroup of women who required insulin therapy for the first time during pregnancy based on glucose monitoring and who did not undergo an OGTT.

Overall, despite all these differences, we found, in a large-scale sample from our population, results similar to those from the original studies, which further validates the proposed models and suggests that they are generalizable. However, variability of current practice internationally for the diagnosis of GDM (77), which will likely persist for a while in light of the controversy surrounding recent recommendations for a universal definition (79), may impact on the generalizability of our results.

The models performed better for the identification of women with GDM who required insulin therapy. Some maternal risk factors, including increased BMI, past history of GDM and family history of diabetes have previously been identified as predictive of the failure of nutritional therapy alone in patients diagnosed with GDM (106, 108, 109). This subgroup of patients represents more severe cases that could benefit from earlier interventions.

Recent evidence suggests that early dietary interventions and physical activity reduce the risk of developing GDM and its complications. In a systematic review and meta-analysis, the implementation of these measures showed potential benefits on lowering incidence of GDM and risk of macrosomia (23). A recent randomized trial including women with a BMI > 25 showed an important reduction in the incidence of GDM (29 % vs 6%) in the intervention group who had multidisciplinary antenatal care starting early in pregnancy (71). Maher et al. have recently shown that an intervention program started at the first prenatal visit reduces the incidence of macrosomia by 20 % in women with a previous history of GDM (72). Finally, in a high-risk population selected with the risk-prediction tool developed by Teede et al. (105), Harrison et al. observed a reduction in gestational weight gain and a tendency toward lower incidence of GDM with a lifestyle intervention during the second trimester (70).

As potential limitations of this work, OGTT was not performed in all participants to confirm diagnosis, although reviewing of the medical records allowed us to detect all GDM cases requiring insulin therapy. Also, data on risk factors were not available for some participants.

In conclusion, external validation in a large cohort of Caucasian women of four risk-prediction models based exclusively on clinical characteristics yielded a performance similar to those observed in the original studies, suggesting that the proposed models are generalizable. In our cohort, the strategy seems particularly promising for the early prediction of GDM requiring insulin therapy. Modulation of the different variables to better reflect the population's characteristics, regarding for example ethnicity and body-mass index as well as inclusion of other factors such as physical activity could allow the creation of a more performing tool. The final model could serve to determine an *a priori* risk as part of an integrated screening strategy. In fact, the addition of selected biochemical markers to

such models has recently been shown to improve their accuracy (123, 138-140). This approach has the potential to reach a performance allowing targeted and effective early interventions, justifying its clinical utilization.

Table 2.1: Characteristics of studies using clinical risk-prediction models for GDM

Model	n	Variables	Risk score	AUC
Naylor et al. 1997 (101) (Canada)	n = 1571 69 GDM (4.4%)	Maternal age Pre-pregnancy BMI Ethnicity	≤ 30 (0); 31-34 (1); ≥ 35 (2) ≤ 22.0 (0); 22.1-25.0 (2); ≥ 25.1 (3) C (0); B (0); A (5); Other (2)	0.729
Caliskan et al. 2004 (103) (Turkey)	n = 422 14 GDM (3.3 %)	Maternal age Pre-pregnancy BMI Past adv outcome* Fam Hx Db (1 st deg) Past Hx macrosomia	1 point for each risk factor	0.833
van Leeuwen et al. 2010 (104) (Netherlands)	n = 995 24 GDM (2.4 %)	Pre-pregnancy BMI Ethnicity Fam Hx Db (1 st -2 nd deg) Past Hx GDM	GDM Probability = 1/ [1 + exp(-β)] β = [-6.1 + (0.83 x non Caucasian ethnicity) + (0.57 x Fam Hx Db) - (0.67 x multiparity without Past Hx GDM) + (0.5 x multiparity with Past Hx GDM) + (0.13 x BMI)]	0.770
Teede et al. 2011 (105) (Australia)	n = 1229 93 GDM (7.6%)	Maternal age BMI at first visit Ethnicity Fam Hx Db (1 st deg) Past Hx GDM	< 25 (0); 25-34 (1); ≥ 35 (2) < 20.0 (0); 20.0-34.9 (1); ≥ 35.0 (2) C (0); B (1); A (0-1-2)†; Polynesian (1); Other (0) No (0); Yes (1) No (0); Yes (2)	0.703

Performance in the validation group; C: Caucasian; B: Black; A: Asian

* Adverse outcome: recurrent spontaneous abortions (> 2), fetal anomaly with normal caryotype or fetal death ≥ 20 weeks.

† Based on Asian region: Central (0); Chinese, Southern, Maritime South-East (1); Mainland South-East (2)

Table 2.2: Characteristics of study participants

Characteristic	Women who developed GDM	Women who did not develop GDM
N	381	6827
Maternal age (years)	30.9 (4.6) †	29.4 (4.3)
Caucasian (%)	96.0	96.8
BMI pre-pregnancy (kg/m ²)	28.3 (7.1) †	24.1 (5.1)
BMI at first prenatal visit (kg/m ²)	29.3 (6.9) †	25.1 (5.1)
Smoking (%)	14.7 *	10.0
Exercise before pregnancy		
0-3 X / month (%)	32.4 *	24.7
1-3 X / week (%)	58.7	61.0
≥ 4 X / week (%)	9.0 *	14.3
Family income ≥ 60 000 CDN\$ (%)	47.5 *	55.2
Nulliparity (%)	42.4	47.3
Family history of diabetes (first degree)	35.2 †	16.5
Family history of diabetes (first or second degree)	72.4 †	54.2
Past obstetrical history		
Gestational diabetes (%)	28.2 †	1.5
Gestational Hypertension or Preeclampsia (%)	8.3 †	3.9
Macrosomic infant (≥ 4000 g) (%)	14.2 †	6.0
Recurrent Spontaneous Abortion (≥ 3) (%)	1.8	1.9
Fetal death ≥ 20 WG (%)	1.2	0.6
Need for insulin therapy (current pregnancy) (%)	66.4	---

GDM: gestational diabetes; WG: weeks of gestation; Mean (standard deviation);

* $P < 0.05$; † $P < 0.001$

Table 2.3: Performance of the clinical risk-prediction models to identify women who developed GDM

Model	n	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	AUC GDM (95% CI)	Original cohort AUC GDM (95% CI) *
Naylor et al. (101)	n = 6160 324 GDM 215 Ins	72.2 (66.9 - 77.0)	55.1 (53.8 - 56.4)	8.2 (7.2 - 9.3)	97.3 (96.6 - 97.8)	0.668 (0.637 - 0.699)	0.729 (0.672 - 0.785)
Caliskan et al. (103)	n = 5639 311 GDM 209 Ins	71.1 (65.6 - 76.0)	59.3 (58.0 - 60.6)	9.3 (8.1 - 10.5)	97.2 (96.6 - 97.8)	0.680 (0.649 - 0.712)	0.833 (0.735 - 0.930)
van Leeuwen et al. (104)	n = 5302 280 GDM 195 Ins	60.4 (54.3 - 66.1)	80.7 (79.6 - 81.8)	14.9 (12.9 - 17.1)	97.3 (96.8 - 97.8)	0.756 (0.725 - 0.787)	0.770 (0.690 - 0.850)
Teede et al. (105)	n = 4408 247 GDM 171 Ins	65.6 (59.3 - 71.4)	75.0 (73.7 - 76.3)	13.5 (11.6 - 15.6)	97.3 (96.7 - 97.9)	0.739 (0.701 - 0.776)	0.703 (0.646 - 0.759)

Se: sensitivity; Sp: specificity; PPV: positive predictive value; NPV: negative predictive value (for GDM diagnosis, at the threshold maximizing the Youden index)

95% CI: 95% confidence interval

* AUC and CI calculated from data in the original articles

Table 2.4: Performance of the clinical risk-prediction models to identify women who developed GDM requiring insulin therapy

Model	n	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	LR+	LR-	AUC GDM Ins (95% CI)
Naylor et al. (101)	n = 6160 215 Ins	82.3 (76.4 - 87.0)	54.9 (53.7 - 56.2)	6.2 (5.4 - 7.2)	98.8 (98.4 - 99.2)	1.83 (1.71 - 1.96)	0.32 (0.24 - 0.43)	0.729 (0.696 - 0.762)
Caliskan et al. (103)	n = 5639 209 Ins	81.3 (75.2 - 86.2)	59.2 (57.8 - 60.5)	7.1 (6.1 - 8.2)	98.8 (98.3 - 99.1)	1.99 (1.85 - 2.14)	0.32 (0.24 - 0.42)	0.745 (0.711 - 0.779)
van Leeuwen et al. (104)	n = 5302 195 Ins	72.8 (65.9 - 78.8)	80.6 (79.5 - 81.7)	12.5 (10.7 - 14.6)	98.7 (98.3 - 99.0)	3.75 (3.39 - 4.16)	0.34 (0.27 - 0.42)	0.824 (0.793 - 0.855)
Teede et al. (105)	n = 4408 171 Ins	77.2 (70.0 - 83.1)	74.7 (73.4 - 76.0)	11.0 (9.3 - 12.9)	98.8 (98.3 - 99.1)	3.06 (2.78 - 3.37)	0.31 (0.23 - 0.40)	0.812 (0.772 - 0.852)

Se: sensitivity; Sp: specificity; PPV: positive predictive value; NPV: negative predictive value; LR+: positive likelihood ratio; LR-: negative likelihood ratio;
 95% CI: 95% confidence interval
 GDM Ins: Gestational diabetes requiring insulin therapy
 Performance at the threshold maximizing the Youden index

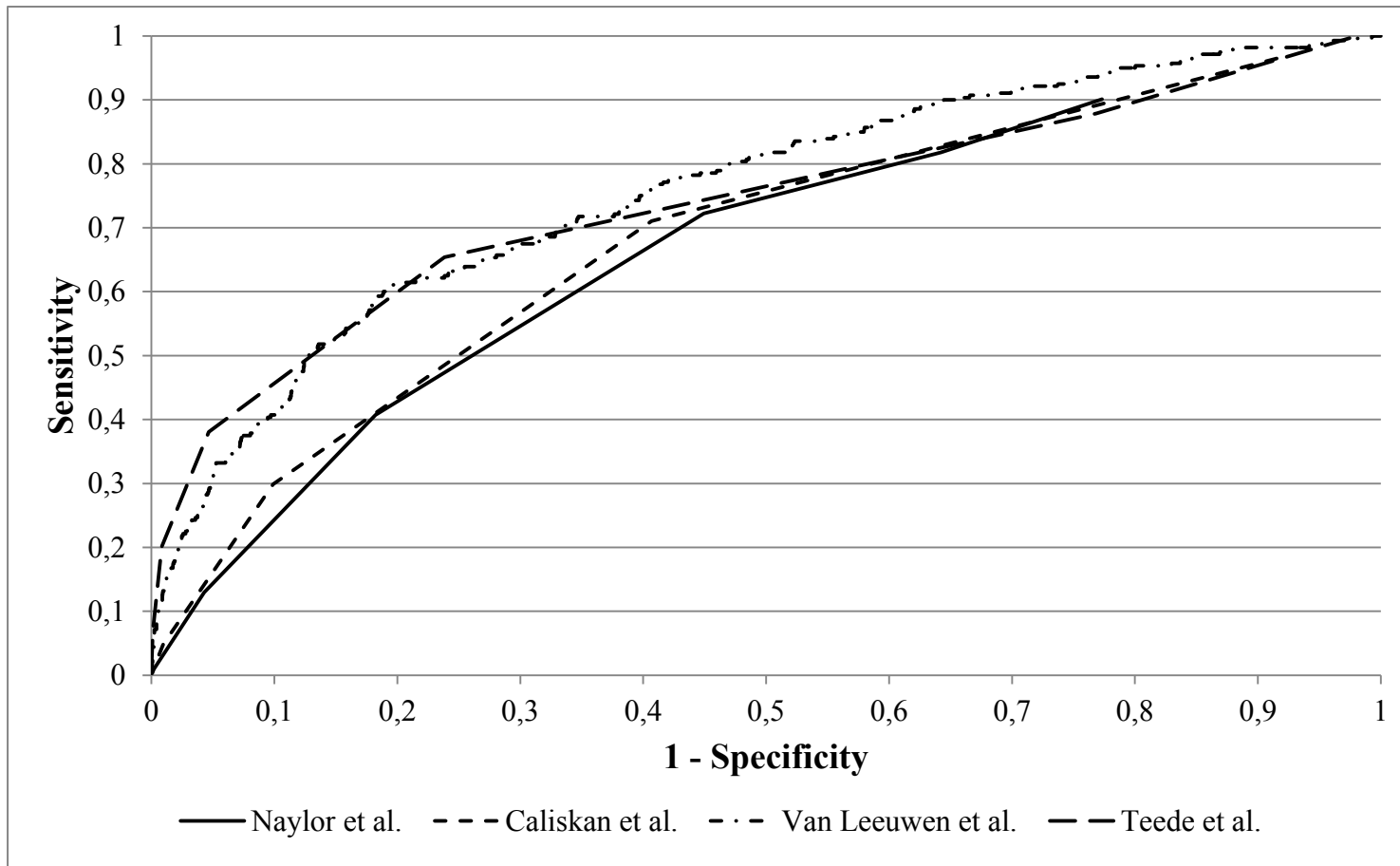
Table 2.5: Performance of the clinical risk-prediction models in all subgroups

Model	GDM	GDM requiring insulin therapy	GDM treated with diet only *	Impaired glucose tolerance *
Naylor et al. (101)	0.668 (0.637 - 0.699)	0.729 (0.696 - 0.762)	0.555 (0.498 - 0.612)	0.572 (0.523 - 0.621)
Caliskan et al. (103)	0.680 (0.649 - 0.712)	0.745 (0.711 - 0.779)	0.551 (0.494 - 0.608)	0.578 (0.530 - 0.627)
van Leeuwen et al. (104)	0.756 (0.725 - 0.787)	0.824 (0.793 - 0.855)	0.602 (0.541 - 0.662)	0.605 (0.555 - 0.655)
Teede et al. (105)	0.739 (0.701 - 0.776)	0.812 (0.772 - 0.852)	0.572 (0.502 - 0.642)	0.575 (0.519 - 0.631)

AUC (95% Confidence interval)

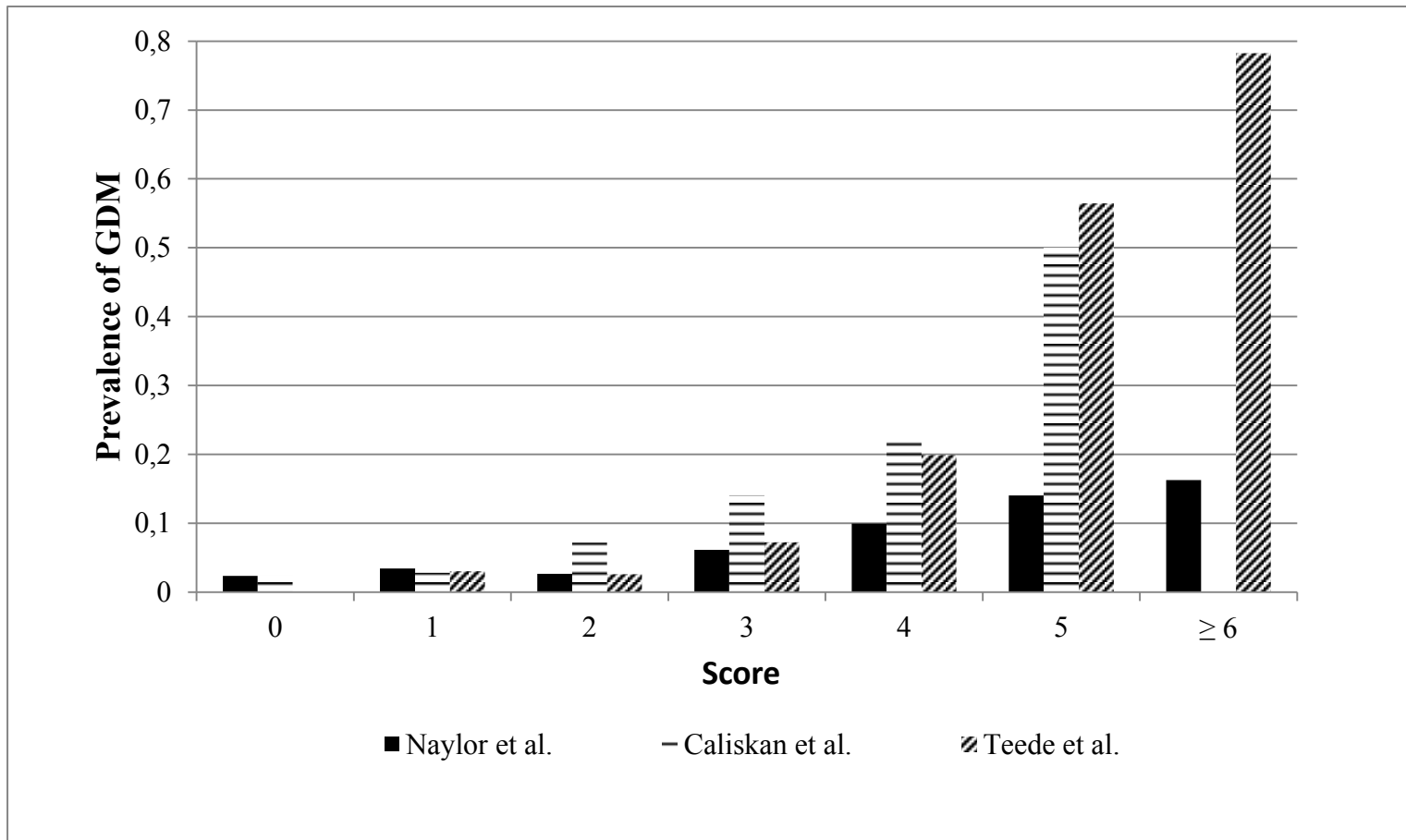
* Performance for the discrimination against controls (other GDM cases excluded)

Figure 2.1: ROC curves of the clinical risk-prediction models for GDM in our cohort



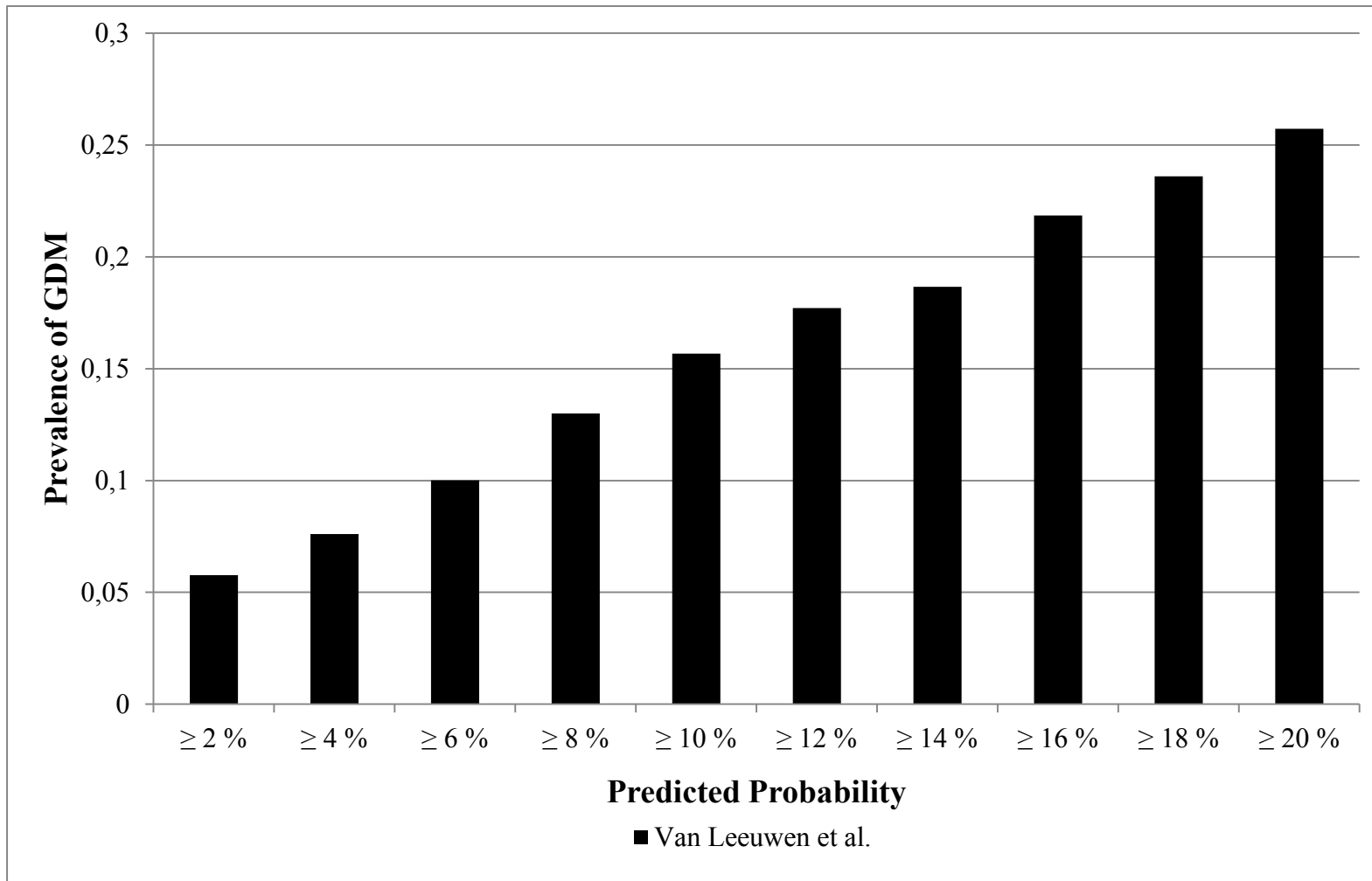
Naylor et al.: AUC = 0.729 [0.672 – 0.785]; Caliskan et al.: AUC = 0.833 [0.735 – 0.930];
van Leeuwen et al.: AUC = 0.770 [0.690 – 0.850]; Teede et al.: 0.703 [0.646 – 0.759]

Figure 2.2: Prevalence of GDM in our cohort according to the risk score for three risk-prediction models



Risk score range: Naylor et al.: 0 to 10; Caliskan et al.: 0 to 5; Teede et al.: 0 to 6

Figure 2.3: Prevalence of GDM in our cohort according to the predicted probability with the model developed by van Leeuwen et al.



Chapitre 3 : Early prediction of gestational diabetes: A practical risk-assessment tool combining clinical and biochemical markers

Thériault S, Giguère Y, Massé J, Girouard J, Forest JC. Early prediction of gestational diabetes: A practical risk-assessment tool combining clinical and biochemical markers. [Soumis à Clinical Chemistry, le 20 mai 2014]

Early prediction of gestational diabetes: A practical risk-assessment tool combining clinical and biochemical markers

Thériault Sébastien MD ^{1,2}, Giguère Yves MD ^{1,2}, Massé Jacques MD ^{1,2}, Girouard Joël MD ^{1,2}, Forest Jean-Claude MD ^{1,2}

¹ CHU de Québec Research Center, 10 rue de l’Espinay, Quebec City, QC, Canada, G1L 3L5

² Département de biologie moléculaire, biochimie médicale et pathologie, Faculté de médecine, Université Laval, 1050 avenue de la Médecine, Quebec City, QC, Canada, G1V 0A6

Corresponding author

Jean-Claude Forest, MD, PhD, FRCPC, CHU de Québec Research Center, 10, rue de l’Espinay, Quebec city, QC, Canada, G1L 3L5

Jean-claude.forest@fmed.ulaval.ca

Telephone: 1-418-525-4444 ext. 54438

Fax: 1-418-525-4195

Funding: Canadian Institutes of Health Research (CIHR) Healthy Pregnancy Initiative Program.

3.1 Résumé

Cette étude vise à développer un modèle prédictif basé sur des caractéristiques cliniques et des marqueurs biochimiques pour l'évaluation précoce du risque de diabète gestationnel (DG).

Il s'agit d'une étude cas-témoins nichée basée sur une cohorte de 7929 femmes enceintes recrutées dans la ville de Québec, incluant 276 femmes qui ont développé un DG.

Le modèle retenu pour la prédiction du DG, basé sur HbA1c, SHBG, hsCRP et quatre variables cliniques, a permis d'obtenir une aire sous la courbe ROC (AUC) de 0,80. Le modèle retenu pour la prédiction du DG nécessitant une insulinothérapie, basé sur HbA1c, SHBG et trois variables cliniques a permis d'obtenir une AUC de 0,90.

Des modèles simples basés sur des caractéristiques cliniques et trois marqueurs biochimiques facilement évaluables pourraient permettre d'identifier précocement les femmes à risque de développer un DG, particulièrement les cas sévères, de façon à faciliter la mise en place d'interventions précoces.

3.2 Abstract

Objective: This study aims to develop a predictive model based on clinical factors and selected biochemical markers for the early risk-assessment of gestational diabetes mellitus (GDM).

Methods: This is a nested case-control study based on a prospective cohort of 7,929 women recruited in the Quebec City metropolitan area. The study includes 276 women who developed gestational diabetes, each matched with two women with normal glycemic profile. Risk-prediction models for GDM were developed following multivariable logistic regression analyses, based on clinical characteristics and the measurement of three biomarkers: whole blood glycated hemoglobin (HbA1c), serum sex hormone binding globulin (SHBG) and high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP) measured between 14 and 17 weeks of gestation.

Results: HbA1c and hsCRP were higher and SHBG was lower in women who developed GDM ($P < 0.001$). The selected model for the prediction of GDM, based on seven variables (HbA1c, SHBG, hsCRP, body-mass index (BMI), past history of GDM, family history of diabetes and soft drink intake during pregnancy), yielded an area under the ROC curve (AUC) of 0.80 (0.77-0.84). For the prediction of GDM requiring insulin therapy, the selected model, including five variables (HbA1c, SHBG, BMI, past history of GDM and family history of diabetes), yielded an AUC of 0.90 (0.86-0.93) and a sensitivity of 71.7% at a false-positive rate of 10%.

Conclusions: A simple model based on clinical characteristics and three selected biomarkers readily available early in pregnancy allows the identification of women at risk of developing GDM, especially severe GDM requiring insulin therapy.

3.3 Introduction

Gestational diabetes mellitus (GDM) is traditionally defined as the onset or first recognition of a glucose tolerance disorder during pregnancy and represents a leading cause of adverse pregnancy outcomes worldwide (2). Prevalence of GDM is generally estimated between 2 and 6% in most developed countries using traditional approaches, but is highly dependent of the diagnostic criteria used (3). Screening and diagnostic strategies vary widely and, despite a recent suggestion by the International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG) (79), there is at present no definitive consensus (17, 88, 151).

Maternal hyperglycemia and GDM are associated with higher rates of macrosomia, cesarean delivery, preeclampsia and neonatal hypoglycemia, which increase the risks of maternal and fetal morbidity and mortality (6, 7, 59). GDM is also an indicator of susceptibility to health problems later in life for both the mother and her child, including obesity, type-2 diabetes, metabolic syndrome and cardiovascular disease (8, 9). GDM and its complications generate a significant burden to the healthcare system, with an increase in costs representing around 25% per pregnancy (13).

Clinical trials have demonstrated that proper diagnosis and treatment of GDM by dietary advice, blood glucose monitoring and insulin therapy when needed significantly reduce perinatal complications, preeclampsia and macrosomia (20, 22). Moreover, there is accumulating evidence suggesting that lifestyle interventions implemented before mid-pregnancy in high-risk women help to reduce the risk of developing GDM and its complications (23, 69, 72). Unfortunately, current screening procedures that usually take place between 24 and 28 weeks of gestation (17) leading to a diagnosis in the third trimester are not optimal for initiating targeted measures early in pregnancy.

Integration of clinical risk factors which could be assessed early in pregnancy (such as body-mass index (BMI), maternal age and past history of GDM) in a prediction model or a risk-scoring system has been attempted in the past to identify early in pregnancy women at risk of developing GDM. The predictive performance was insufficient for clinical implementation with areas under the receiver operating characteristic curve (AUC) between 0.70 and 0.83 (101, 103-105). We have recently shown that these models yield similar

AUC (from 0.67 to 0.76) in an independent cohort and are promising for the prediction of women who develop GDM requiring insulin therapy (152), which have a particularly high risk of adverse outcomes (58).

Addition of the measurement of some biochemical markers during the first trimester to create a combined predictive model has been proposed and showed slightly better predictive performance with AUC between 0.70 and 0.87 (123, 138-140) in specific studies. However, those studies used variable diagnostic criteria not related to adverse pregnancy outcomes and biomarkers not currently validated for clinical utilisation.

We evaluated the potential of three clinically validated biomarkers, glycated hemoglobin (HbA1c), sex hormone binding globulin (SHBG) and high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP), which are stable, readily available, do not require fasting before blood collection and were proposed as having the potential to predict GDM early in pregnancy (113, 118, 122, 123). By investigating the predictive performance of a combination of these three biomarkers with selected clinical factors, we aimed to develop a practical predictive model using robust multivariable modelling to allow early identification of women who will develop GDM and especially those requiring insulin therapy, which would mostly benefit from targeted interventions.

3.4 Materials and Methods

This case-control study is based on a prospective cohort of 7,929 pregnant women, including 391 women who developed GDM (Figure 3.1), recruited at the CHU de Québec between April 2005 and March 2010 at their first prenatal visit at the institution between 10 and 18 weeks of gestation (recruitment rate of 86%). The inclusion criteria were maternal age of 18 years or older and the absence of chronic hepatic or renal disease. Participants gave written informed consent and the study was approved by the CHU de Québec ethics review board. For the present study, we excluded women with pregestational diabetes, multiple pregnancy, delivery before 32 weeks of gestation in the absence of screening and/or diagnostic tests for GDM and uncertain diagnosis due to incomplete information. We selected participants who had their first visit at the institution between 14 and 17 weeks

of gestation. This time frame included the majority of blood samples available among women who developed GDM (276/391, 71%).

Each of the 276 GDM cases was matched with two women with normal glycemic profile, using gestational age at blood sampling (± 3 days) and duration of blood sample storage (± 3 months) as matching criteria.

GDM diagnosis was established according to the Canadian Diabetes Association 2008 Clinical Practice Guidelines (16). According to these recommendations, most women (90.7%) had a 50g glucose challenge test (GCT) between 24 and 28 weeks of gestation, followed by a 75g oral glucose tolerance test (OGTT) if the result of the GCT was between 7.8 and 10.2 mmol/L. GDM was diagnosed if the result of the GCT was ≥ 10.3 mmol/L or if two or more values equalled or exceeded the thresholds of 5.3, 10.6 and 8.9 mmol/L at 0, 1 and 2 hours respectively during the OGTT. We also included another GDM subgroup of women who received insulin for the first time during pregnancy. This group consisted of participants for whom abnormal results on glucose monitoring led to the decision to start insulin therapy during pregnancy. This allowed to mitigate the false negative rate of the GCT as all women who developed severe GDM requiring insulin therapy were included.

At the time of the GCT, participants completed a self-administered questionnaire allowing the collection of socio-demographic and biomedical information on risk factors. The questionnaire included information on maternal age, parity, ethnic origin, anthropometry, life habits, and personal and family medical history. We used validated questions on health and dietary habits, including semi-quantitative assessment of the frequency of physical activity (number of sessions of 20 to 30 minutes per week) and soft drink intake (number of glasses per week) before and during pregnancy. After delivery, the medical record of each participant was reviewed to complete clinical information, including the need for insulin therapy in women who developed GDM and the presence of infection or chronic inflammatory disease in the first or second trimester. According to practice guidelines (17), insulin therapy was initiated if, within 2 weeks, nutrition therapy alone did not allow to attain the following glycemic targets: fasting glucose < 5.3 mmol/L, 1-h post-prandial glucose < 7.8 mmol/L and 2-h post-prandial glucose < 6.7 mmol/L.

Based on previous studies on risk factors for GDM, we selected the following clinical variables to be included in the full model: maternal age, pre-pregnancy BMI, ethnicity, past history of GDM, past history of macrosomia, family history of diabetes (first degree), physical activity before pregnancy and soft drink intake before and during pregnancy (50, 152, 153).

We also selected three readily available biomarkers that have been previously proposed as predictive of GDM, namely HbA1c, SHBG and hsCRP (113, 118, 122, 123). Candidate biomarkers were analyzed on non-fasting blood samples (whole blood or serum) drawn between 14 and 17 weeks of gestation and processed within 2 hours of collection. Aliquoted samples were stored at -80°C until analyses.

Analyses of the biomarkers were performed on automated analysers used in the clinical setting. Whole blood HbA1c was measured by turbidimetric inhibition immunoassay (Roche Diagnostics, Laval, Québec, Canada). For the measurement of SHBG, serum samples were diluted 1:10 with Elecsys Diluent MultiAssay according to the manufacturer's recommendations and the quantification was made by electrochemiluminescence immunoassay (Roche Diagnostics, Laval, Québec, Canada). Serum hsCRP was measured by immunoturbidimetry (Roche Diagnostics, Laval, Québec, Canada). Inter-assay coefficients of variation were 2.9% for HbA1c, 2.0% for hsCRP and 3.7% for SHBG. Laboratory personnel was blinded to case-control status and clinical data.

Statistical analyses

Continuous variables are expressed as median and interquartile range. Comparisons between groups were performed by Mann-Whitney U-test for continuous variables and chi-square test or Fisher's exact test for categorical variables.

We used unconditional logistic regression to develop a risk-assessment model for GDM and GDM requiring insulin therapy, based first on a full model approach. We then used a stepwise approach with backward elimination to create a more parsimonious model. P values of < 0.157 and < 0.15 were needed for a variable to be respectively retained or reincluded in the multimarker model. Models developed with backward elimination at a threshold of $P < 0.157$ approximate those obtained when the Akaike information criterion

(AIC) is used as an optimization criterion (154). Participants with missing results for any of the variables were excluded. For hsCRP, we analyzed all the data and then excluded participants with a chronic inflammatory disease or infection during the first or second trimester and those with hsCRP > 10 mg/L. Non-parametric bootstrapping (100 repetitions), using resampling of observations with replacement, was performed to verify the stability of the selection process.

Sensitivity was determined for false-positive rates (FPR) of 5 and 10%. Positive and negative predictive values (PPV, NPV) were calculated with adjustment for the prevalence of the conditions in the entire cohort. We evaluated the predictive performance using AUC. Confidence intervals (95% CI) were calculated. Internal validation (evaluation of robustness) was verified by non-parametric bootstrapping (50 repetitions), using resampling of observations with replacement, to estimate the performance of the selected models. Final calibration was determined by goodness-of-fit statistics. Differences were considered significant at $P < 0.05$ (two-sided). We performed statistical analyses using Stata, version 13.1 (StataCorp LP, College Station, Texas, USA).

3.5 Results

The study included 276 women who developed GDM, among which 69 were diagnosed based on the result of the GCT only (≥ 10.3 mmol/L), 132 based on the OGTT and 75 based on glucose monitoring and the need for insulin therapy (Figure 3.1). Among women who developed GDM, 175 required insulin therapy (63.4%). Women who developed GDM were older, had higher BMI and intake of soft drinks before and during pregnancy, lower family income, higher rates of family history of diabetes and past history of gestational diabetes or previous macrosomic infant (Table 3.1). The differences were more important for women with GDM requiring insulin therapy and there were more multiparous women in that group.

Women who developed GDM had significantly higher whole blood HbA1c, lower serum SHBG and higher serum hsCRP measured between 14 and 17 weeks of gestation ($P < 0.001$). The differences remained significant for hsCRP after the exclusion of women with

active infection during first or second trimester, chronic inflammatory diseases and hsCRP of 10 mg/L or higher (Table 3.2).

The full model included 12 variables: HbA1c, SHBG, hsCRP, maternal age, BMI, ethnicity, past history of GDM, past history of macrosomia, family history of diabetes, physical exercise before pregnancy and soft drink intake before and during pregnancy. Following a stepwise approach with backward elimination, seven variables were retained for the prediction of GDM: HbA1c, SHBG, hsCRP, BMI, past history of GDM, family history of diabetes and soft drink intake during pregnancy. The most predictive variables were past history of GDM, HbA1c, family history of diabetes and BMI (Table 3.3). The selected model yielded an AUC of 0.80 (0.77-0.84) and a sensitivity of 52.9% at a false-positive rate (FPR) of 10% (Table 3.4 and Figure 3.2). When women with chronic inflammatory disease, infection during the first or second trimester or hsCRP >10 mg/L were excluded (133 controls and 120 cases), hsCRP was not retained by the stepwise approach in the multivariable model (it was included in only 20 out of 100 bootstrap repetitions). The performance of the resulting model including 6 variables (without hsCRP) remained similar, with an AUC of 0.80 (0.76-0.84).

Regarding the prediction of GDM requiring insulin therapy, the selected model included five variables: HbA1c, SHBG, BMI, past history of GDM and family history of diabetes and yielded an AUC of 0.90 (0.86-0.93) and a sensitivity of 71.7% at a FPR of 10% (Table 3.4 and Figure 3.2).

The variables selected in the models were retained in the majority of the bootstrap samples confirming the robustness of the selection procedure (Table 3.3). The performance of the models selected by the stepwise approach was similar to the full models (Table 3.4). The calibration of both selected models was good as evaluated by goodness-of-fit ($\chi^2=634.89$, $P=0.516$ and $\chi^2=402.21$, $P=0.737$).

3.6 Discussion

GDM is usually diagnosed late in pregnancy which hampers the implementation of early interventions to reduce its complications. We have developed predictive models based on clinical and biochemical markers available 7 to 14 weeks earlier than actual screening

procedures for GDM. The selected models showed fair performance for the prediction of GDM with an AUC of 0.80, but more promising results were obtained for the prediction of GDM requiring insulin therapy with an AUC of 0.90.

The most predictive clinical variables were BMI, past history of GDM and family history of diabetes, as it was previously reported (104, 105) and recently validated in our cohort (152). Maternal age was slightly higher in women who developed GDM but was not retained in the multivariable models, which might be explained by the relatively more advanced age of pregnant women in our cohort (the control group had a median age of 29.2 years). As expected in our cohort, ethnicity was similar in all subgroups since more than 95% of the women are Caucasian. There was a trend for lower rates of highly active women (≥ 4 sessions of 20 to 30 minutes per week before pregnancy) in the GDM group but the difference was not significant. Finally, soft drink intake during first and second trimester (but not before pregnancy) was higher in women with GDM and was retained in one of the risk models, which deserves further investigation.

The measurement of readily available biomarkers between 14 and 17 weeks of gestation significantly improved the performance of the models. Indeed, in a validation study of proposed models based only on clinical characteristics (152), we obtained sensitivities of 41% and 51% at FPR of 10% for the prediction of GDM and GDM requiring insulin therapy compared to sensitivities of 53% and 72% in the present study. The utility of a combination of various factors, both clinical and biochemical, may reflect the multifactorial origin of GDM.

Before 17 weeks of gestation, the insulin resistance induced by placental hormones has not yet fully developed, therefore the changes observed in the three selected biomarkers might be more suggestive of pre-existing insulin resistance. While HbA1c is lower during pregnancy than in the nonpregnant state, some studies showed that higher levels can be found in the first trimester in women who develop GDM (113). HbA1c is a candidate marker of the glycemic status during first trimester, which seems to be slightly higher in women at increased risk of GDM even in the absence of overt diabetes. SHBG is considered as a biomarker of elevated insulin and was more recently associated with liver fat deposition (115). Lower levels have been observed in women who develop GDM as

soon as in the first trimester, particularly in those who will require insulin therapy (118). There is emerging evidence that inflammation is causally linked to insulin resistance and impairment of beta cell function which might explain why hsCRP is higher in women who develop GDM, as shown in some studies (122, 123). However, the contribution of hsCRP to the models was only significant for prediction of GDM at large, and disappeared after exclusion of women with infection, inflammatory disease or values $>10\text{mg/L}$, which might imply that these women are at higher risk of being diagnosed with GDM.

In recent years, several attempts have been made to combine clinical information and biomarkers to screen early in pregnancy for women at risk of developing GDM. Based on a single cohort from United Kingdom including about 35% of women of African origin, Savvidou et al., Nanda et al. and Ferreira et al. obtained AUC between 0.81 and 0.87 by combining maternal factors including ethnicity and biochemical markers (HDL cholesterol, tissue plasminogen activator, adiponectin, SHBG and visfatin) measured between 11 and 13 weeks of gestation (123, 138, 139). More recently, Lovati et al. combined maternal risk factors and pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) measured in the first trimester to obtain an AUC of 0.70 for the prediction of GDM in nulliparous women (140). Using a combination of maternal characteristics and soluble (pro)renin measured before 14 weeks, Watanabe et al. obtained an AUC of 0.79 (136). Finally, in a study including 90 women who developed GDM, Rasanen et al. have reported AUC of 0.91 between 5 and 13 weeks of gestation with a single marker, glycosylated fibronectin, but these results will have to be replicated in larger studies (135). In line with these studies with less conventional biomarkers, our models improve the capability to identify earlier in pregnancy women at risk of developing GDM and in particular those who will require insulin therapy.

The suggestion of a uniform and more inclusive strategy for screening and diagnosis of GDM by the IADPSG (79) has raised the issue of allocating limited resources to the women who will benefit most. A recent consensus statement from the NIH concluded that there is not sufficient evidence to adopt a one-step approach as it would increase the prevalence of GDM and the corresponding costs and interventions, without clear demonstration of improvement in the most clinically important health and patient-centered outcomes (88). In this context, a model with good performance for identifying early in

pregnancy women who will develop severe GDM requiring insulin therapy would allow interventions targeted at a subpopulation with increased risk of adverse outcomes.

Women who develop GDM requiring insulin therapy have a particularly high risk of adverse outcomes, including macrosomia, caesarean delivery and neonatal hypoglycemia, notably higher than patients treated with diet only (58). Some studies found that maternal risk factors, including increased BMI, past history of GDM and family history of diabetes were predictive of the failure of nutritional therapy alone (106, 109). However, to our knowledge, no studies evaluated the performance of an early predictive model combining clinical and biochemical markers to identify this group of women. This group represented a high proportion of the women who developed GDM in our study (63.4%) and in the whole cohort (66.5%, for a total prevalence of 3.3%). This is slightly higher than reported in other cohorts (2, 109), which can be explained by the inclusion of all women who required at least one dose of insulin during pregnancy (even in the absence of a positive OGTT) and the use of traditional diagnostic criteria for GDM. The Canadian recommendations for starting insulin therapy are based on the available evidence and are similar to other national guidelines (17, 151).

A strategy to identify women at increased risk of GDM between 14 and 17 weeks of gestation, 7 to 14 weeks before the actual screening procedure, would allow the implementation of early preventive measures. Recent evidence suggests that early dietary interventions and possibly physical activity could reduce the risk of developing GDM and its complications, although adequately powered studies are lacking (68). In two systematic reviews and meta-analyses, the implementation of these measures showed potential benefits on lowering incidence of GDM and risk of macrosomia (23, 69). In women with a previous history of GDM who required insulin therapy, Maher et al. have recently shown that an intervention program started at the first prenatal visit reduces the incidence of macrosomia by 20 % (72).

A predictive model to identify early in pregnancy women who would require insulin therapy for early referral to ensure appropriate follow-up has the potential to reduce substantially adverse outcomes. The time frame between 14 and 17 weeks of gestation would facilitate clinical implementation, taking advantage of other already existing

screening programs such as screening for trisomy 21 that require blood sampling or ultrasound measurements at this stage of pregnancy. Moreover, the selected biomarkers are stable, easily measurable with automated instruments and do not require fasting before blood collection.

Strengths of this study include the size of the cohort and the high recruitment rate, which minimize the risk of bias. The large number of women with GDM in our cohort allowed us to create a model with several variables. We selected a priori 12 variables based on the literature to avoid finding differences by chance. We used as few matching criteria as possible (only gestational age at blood collection and duration of sample storage for the biomarkers evaluation) to limit the risk of selection bias. The robustness of the models obtained by stepwise approach were confirmed by bootstrapping and showed good stability for the most predictive variables. The performance of the models was also evaluated by bootstrapping to assure internal validity. Variability of diagnostic criteria internationally alongside the fact that OGTT was not performed in all participants constitute limitations, but the inclusion of all women who required insulin therapy for the first time during pregnancy allowed us to use an objective criterion to identify all women with severe GDM. Data on risk factors were not available for some participants. Study participants were predominantly Caucasians; therefore results need to be validated in different populations. The models could perform better in populations with higher prevalence of GDM due to environmental factors and/or ethnicity.

In brief, we propose a simple model based on clinical characteristics and selected biomarkers that allows the early identification of women at risk of developing severe GDM in order to facilitate early interventions. Furthermore, the proposed strategy takes advantage of convenient and readily available biochemical markers. Further studies are needed to validate the proposed models and the efficacy of interventions in reducing GDM and its complications in women identified at high risk.

Table 3.1: Characteristics of participants in the case-control study

	Control group	All GDM	GDM insulin therapy
N	552	276	175
Maternal age (years)	29.2 (5.4)	30.8 (5.9) *	31.5 (6.7) *
BMI pre-pregnancy (kg/m ²)	22.6 (5.4)	26.4 (9.4) *	28.4 (9.7) *
Gestational age at sampling (weeks)	15.3 (0.6)	15.3 (0.9)	15.3 (0.9)
Duration of sample storage (days)	2399 (521)	2401 (518)	2397 (536)
Caucasian (%)	97.6	95.8	95.3
Smoking (%)	10.0	14.5	12.6
Exercise before pregnancy (%)			
< 1 X / week (%)	25.7	31.8	32.9
1-3 X / week (%)	59.1	57.6	56.3
≥ 4 X / week (%)	15.2	10.6	10.8
Soft drink intake before pregnancy (%)			
≤ 1 glass / week	51.3	36.1 *	33.6 *
2-6 glasses / week	25.1	26.2	24.8
1-3 glasses / day	20.0	31.6 *	34.9 *
≥ 4 glasses / day	3.6	6.1	6.7
Soft drink intake during pregnancy (%)			
≤ 1 glass / week	63.8	47.9 *	47.3 *
2-6 glasses / week	22.4	28.5	26.0
1-3 glasses / day	13.4	21.5 †	24.7 *
≥ 4 glasses / day	0.4	2.1 †	2.0
Family income ≥ 60 000 CDN\$ (%)	53.8	42.2 †	40.3 †
Nulliparity (%)	48.9	44.9	34.9 †
Family history of diabetes (first degree) (%)	16.2	35.3 *	43.0 *
Family history of diabetes (first or second degree) (%)	56.8	69.6 †	75.8 *

	Control group	All GDM	GDM insulin therapy
Past obstetrical history			
Gestational diabetes (%)	0.7	24.5 *	35.3 *
Gestational Hypertension or Preeclampsia (%)	3.7	6.6	7.0
Macrosomic infant (≥ 4000 g) (%)	6.5	13.0 †	14.5 *
Recurrent Spontaneous Abortion (≥ 3) (%)	1.4	2.2	2.3

Median +/- Interquartile range; * $P < 0.001$; † $P < 0.05$ compared to the control group.

Mann-Whitney U-test for continuous variables, chi-square or Fisher's exact test for categorical variables

Data unavailable: BMI: 4 women with GDM; Ethnicity: 11 women in the control group and 40 women with GDM; Smoking: 2 women in the control group and 20 women with GDM; Exercise: 21 women with GDM; Soft drink intake before pregnancy: 18 women in the control group and 32 women with GDM; Soft drink intake during pregnancy: 21 women in the control group and 34 women with GDM; Income: 39 women in the control group and 46 women with GDM; Family history (first degree): 41 women in the control group and 41 women with GDM; Family history (first or second degree): 45 women in the control group and 46 women with GDM; Past gestational diabetes: 16 women in the control group and 3 women with GDM; Past hypertensive disorder of pregnancy: 17 women in the control group and 5 women with GDM; Past macrosomic infant: 10 women in the control group and 6 women with GDM; Spontaneous abortion: 1 woman with GDM.

Table 3.2: Biomarkers measurements

	Control group	All GDM	GDM insulin therapy
N	552	276	175
HbA1c (%)	5.0 (0.2)	5.1 (0.4) *	5.2 (0.4) *
HbA1c (mmol/mol)	31.0 (2.2)	32.0 (4.4) *	33.0 (3.8) *
SHBG (nmol/L)	412 (176)	357 (162) *	354 (169) *
hsCRP (All) (mg/L)	4.5 (4.6)	6.9 (7.7) *	7.5 (8.4) *
hsCRP (with exclusion**) (mg/L)	3.8 (3.8)	4.8 (3.8) *	4.9 (4.2) †

Median +/- Interquartile range; * $P < 0.001$; † $P < 0.05$ compared to the control group.

Mann-Whitney U-test

Data unavailable: HbA1c: 46 women in the control group and 21 women with GDM;

SHBG: 2 women in the control group and 1 woman with GDM

** Participants with active infections during first or second trimester, chronic inflammatory disease or hsCRP ≥ 10 mg/L were excluded: 133 participants in the control group and 120 participants with GDM.

Table 3.3: Regression coefficients of the models chosen by stepwise analysis

	Variable	Regression Coefficient	Standard error	z	P	n Bootstrap *
GDM	HbA1c (%)	197.447	40.642	4.86	<0.001	100
	SHBG (nmol/L)	-0.002	0.001	-2.30	0.021	76
	hsCRP † (mg/L)	0.023	0.016	1.45	0.148	58
	BMI (kg/m ²)	0.064	0.020	3.27	0.001	96
	Past history of GDM	3.000	0.553	5.42	<0.001	99
	Family history of diabetes	0.860	0.242	3.55	<0.001	100
	Soft drink intake during pregnancy (4 classes)	0.242	0.122	1.99	0.047	67
	Constant	-12.741	2.153	-5.92	<0.001	---
GDM requiring insulin therapy	HbA1c (%)	275.738	58.616	4.70	<0.001	100
	SHBG (nmol/L)	-0.003	0.001	-2.58	0.010	96
	BMI (kg/m ²)	0.103	0.024	4.35	<0.001	98
	Past history of GDM	3.952	0.781	5.06	<0.001	89
	Family history of diabetes	1.305	0.338	3.86	<0.001	99
	Constant	-17.094	3.146	-5.43	<0.001	---

* Number of repetitions (non-parametric bootstrapping) in which the variable was selected (out of 100 repetitions)

† Without exclusion

Table 3.4: Performance of the predictive models

	n Cases	n Controls	FPR (%)	Sensitivity (%)	PPV (%)	NPV (%)	AUC
GDM	276	552					
Full model *	186	426	5	46.8	33.0	97.1	0.814 (0.775 - 0.853)
			10	54.3	22.2	97.4	
Stepwise model †	204	441	5	43.6	31.5	97.0	0.804 (0.766 - 0.843)
			10	52.9	21.8	97.3	
GDM requiring insulin therapy	175	350					
Full model *	120	271	5	61.7	29.6	98.6	0.900 (0.866 - 0.934)
			10	70.0	19.3	98.9	
Stepwise model **	138	289	5	59.4	28.8	98.6	0.895 (0.862 - 0.928)
			10	71.7	19.7	98.9	

* Model including HbA1c, SHBG, hsCRP, maternal age, BMI, ethnicity, past history of GDM, past history of macrosomia, family history of diabetes, physical exercise before pregnancy and soft drink intake before and during pregnancy

† Model including HbA1c, SHBG, hsCRP, BMI, past history of GDM, family history of diabetes and soft drink intake during pregnancy

** Model including HbA1c, SHBG, BMI, past history of GDM and family history of GDM

Performance estimated by non-parametric bootstrapping (50 repetitions)

Figure 3.1: Flowchart of study participants

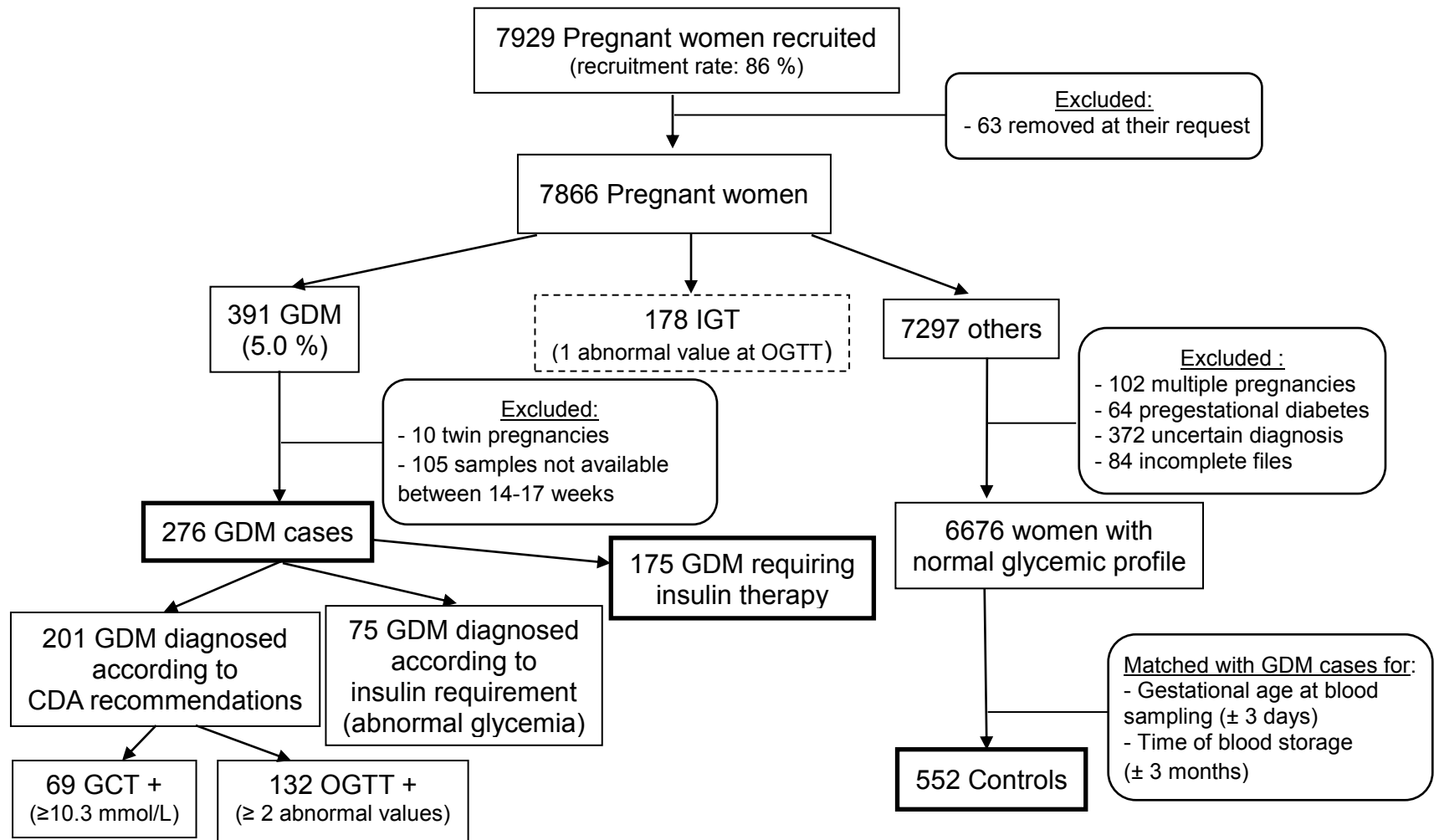
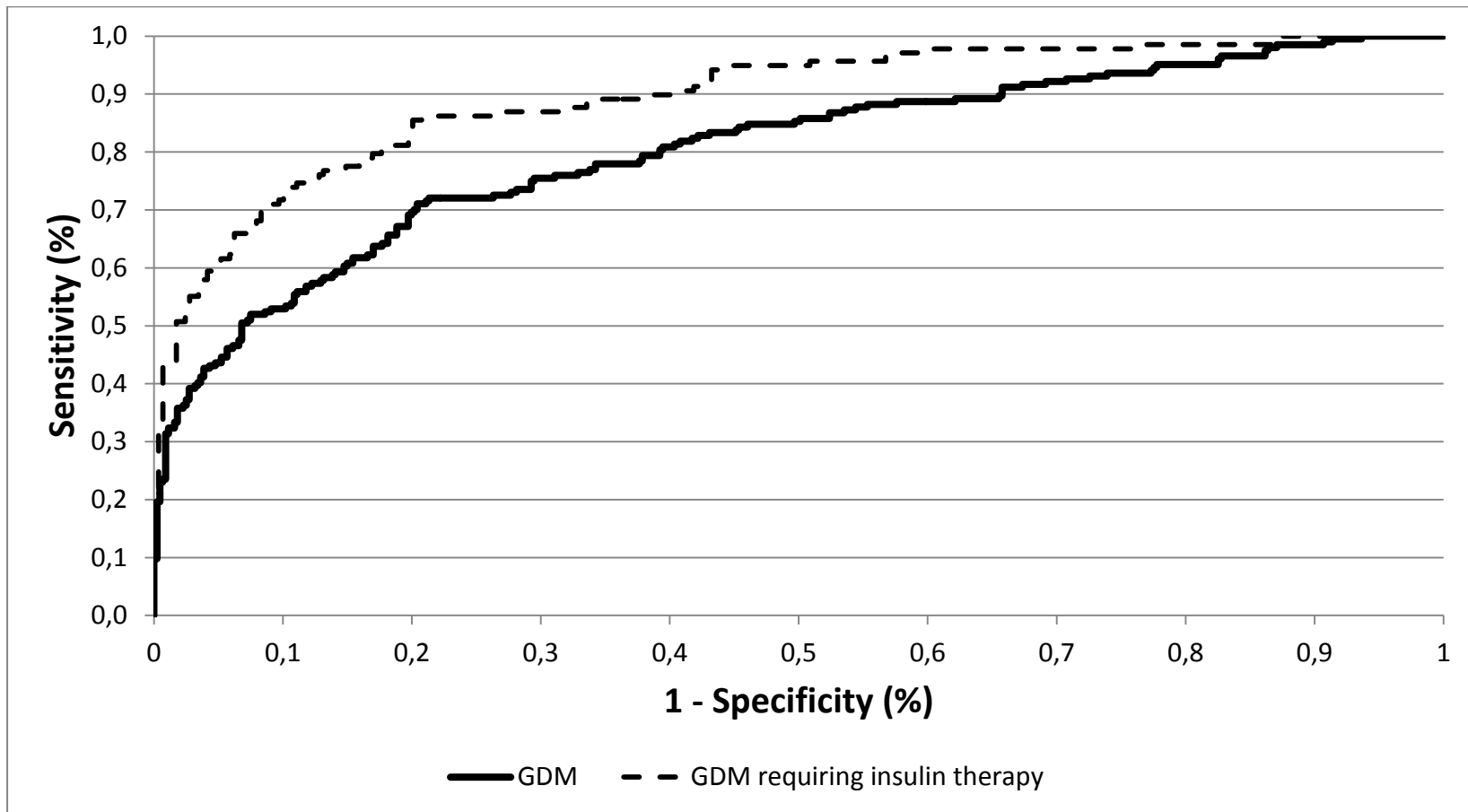


Figure 3.2: ROC curves of the selected models combining maternal factors and biochemical markers for the prediction of GDM



AUC = 0.80 [0.77 - 0.84] for the prediction of gestational diabetes at large (solid line) and AUC = 0.90 [0.86 - 0.93] for the prediction of gestational diabetes requiring insulin therapy (dashed line)

Chapitre 4 : Discussion et Conclusion

Discussion et Conclusion

Ce projet a d'abord permis de valider le potentiel de certains facteurs maternels facilement identifiables en début de grossesse pour prédire le développement du diabète gestationnel. Un antécédent de DG lors d'une grossesse antérieure, un IMC élevé, une histoire familiale de diabète (1^{er} degré) et un âge maternel avancé ont été identifiés comme les facteurs les plus significatifs. Les modèles publiés dans la littérature basés sur ces variables ont permis d'obtenir des performances intéressantes, particulièrement pour identifier précocement les femmes à risque de développer un DG sévère nécessitant une insulinothérapie, avec une AUC allant jusqu'à 0,82.

Dans un deuxième temps, la combinaison de ces facteurs de risque maternels avec trois marqueurs biochimiques (HbA1c, SHBG et hsCRP) dans un modèle original a permis d'obtenir des performances supérieures, avec une AUC atteignant 0,90 et une sensibilité de 72% à un taux de faux positifs de 10% pour la prédiction du DG traité à l'insuline.

Dans les modèles développés à partir de notre cohorte, les variables cliniques les plus significatives sont l'IMC, un antécédent de DG et une histoire familiale de diabète (1^{er} degré), tel que rapporté dans d'autres études (104, 105). L'obésité, par des mécanismes impliquant entre autres l'inflammation et l'insulinorésistance, est un facteur de risque reconnu pour le développement du diabète de type 2, lequel partage une physiopathologie similaire avec le DG. Il est logique de penser qu'une femme atteinte d'un DG lors d'une grossesse antérieure est à haut risque de développer la maladie lors d'une grossesse subséquente, en présence d'un stress similaire induisant une insulinorésistance. L'âge maternel était légèrement supérieur chez les femmes qui ont développé un DG, mais la variable n'a pas été retenue dans les modèles multivariés. Une explication possible est que les femmes enceintes de la cohorte ont un âge relativement avancé (médiane de 29,2 ans dans le groupe témoin). Il est donc plus difficile d'observer une différence significative si la cohorte comprend un faible nombre de jeunes femmes chez qui le risque est plus faible. Tel qu'attendu, l'origine ethnique était similaire dans les sous-groupes, étant donné la forte majorité de femmes d'origine caucasienne (plus de 95%) dans la cohorte. Les études chez des populations plus variées, par exemple avec une plus grande proportion de femmes d'origine africaine ou sud-asiatique, ont rapporté une valeur prédictive significative de

l'origine ethnique (105, 138). Une tendance vers une prévalence plus faible de femmes très actives (≥ 4 séances de 20 à 30 minutes d'activité physique par semaine avant la grossesse) a été observée dans le groupe ayant développé un DG, mais la différence n'était pas significative. Il est probable que les femmes très actives améliorent leur sensibilité à l'insuline, ce qui aurait un effet protecteur (51). Par contre, l'évaluation par un questionnaire demeure une mesure subjective et un reflet approximatif du niveau d'activité, ce qui peut limiter son efficacité comme facteur prédictif. Enfin, la consommation de boissons gazeuses durant le premier et le deuxième trimestre (mais non avant la grossesse) était plus élevée chez les femmes développant un DG et a été retenue dans un des modèles. Cette observation mérite d'être investiguée de façon plus approfondie. Une association a déjà été observée entre la consommation de boissons gazeuses et le DG (50) ainsi que le diabète de type 2 (155-157).

La mesure de trois marqueurs biochimiques facilement disponibles entre 14 et 17 semaines de grossesse a amélioré la performance des modèles. En effet, les sensibilités pour la détection du DG et du DG nécessitant une insulinothérapie étaient de 41% et 51% à un taux de faux positif de 10% dans la première étude basée seulement sur des caractéristiques cliniques en comparaison avec des sensibilités de 53% et 72% avec les modèles complets incluant les marqueurs biochimiques. L'utilité d'une combinaison de marqueurs variés peut s'expliquer par l'origine multifactorielle du DG, laquelle implique à la fois des facteurs environnementaux et génétiques.

Avant 17 semaines de grossesse, la résistance à l'insuline induite par les hormones placentaires n'est pas encore installée (32, 33). Ainsi, les différences observées pour les trois biomarqueurs sont davantage suggestives d'une insulino-résistance préexistante. L'HbA1c est un marqueur de la glycémie durant le premier trimestre, laquelle semble légèrement augmentée chez les femmes qui développent un DG, même en l'absence d'un diabète préexistant. La SHBG serait directement impliquée dans la physiopathologie du diabète de type 2, tel que montré par des études de randomisation mendélienne (158, 159). Des données suggèrent que la protéine pourrait influencer la production hépatique de glucose. Il a aussi été rapporté récemment que l'accumulation de gras hépatique pourrait diminuer la production de SHBG (115). Des concentrations plus faibles ont été observées

de façon consistante dès le premier trimestre chez les femmes qui développent un DG (116-118). La hsCRP est un marqueur courant qui permet d'évaluer le niveau d'inflammation, laquelle pourrait être impliquée dans le développement de l'insulinorésistance et du DG. Les trois marqueurs biochimiques sélectionnés ne requièrent pas de jeûne avant le prélèvement, sont stables pendant le transport vers le laboratoire et facilement mesurables avec des instruments automatisés.

La suggestion d'une nouvelle stratégie pour le dépistage et le diagnostic du DG par l'IADPSG (79) soulève plusieurs questions concernant l'allocation des ressources. Avec les critères suggérés, la prévalence du DG pourrait atteindre 18% aux États-Unis selon les données de l'étude HAPO (79). Une telle prévalence entraînerait des dépenses importantes liées à la prise en charge. D'ailleurs, une déclaration de consensus récente du *National Institutes of Health* (NIH) conclut qu'il n'y a actuellement pas assez de données pour adopter cette stratégie (88). Dans ce contexte, un modèle pour identifier tôt en grossesse les femmes à risque de développer un DG sévère nécessitant une insulinothérapie permettrait des interventions plus ciblées. Il deviendrait alors possible de mieux gérer les ressources en identifiant une sous-population avec un risque élevé d'issues adverses de grossesse qui bénéficierait davantage d'interventions précoces.

Les femmes qui développent un DG nécessitant une insulinothérapie ont un risque particulièrement élevé d'issues adverses de grossesse, incluant la macrosomie, l'accouchement par césarienne et l'hypoglycémie néonatale, notamment plus élevé que les femmes traitées avec des interventions diététiques seulement (58). Une importante proportion des femmes ayant développé un DG ont nécessité une insulinothérapie, soit 63,4% dans l'étude cas-témoins et 66,5% dans la cohorte entière. La proportion est légèrement plus élevée que celle rapportée dans la plupart des études (généralement entre 20% et 55%) (2, 106-109, 160), ce qui pourrait s'expliquer par l'inclusion de toutes les femmes ayant nécessité au moins une dose d'insuline durant la grossesse (même en l'absence d'une HGOP positive) et l'utilisation des critères diagnostiques traditionnels pour identifier la majorité des femmes qui ont développé un DG. Les recommandations canadiennes pour l'initiation de l'insulinothérapie sont basées sur les évidences actuellement disponibles et sont similaires à d'autres guides de pratique nationaux (17, 86).

La prévalence totale du DG nécessitant une insulinothérapie dans la cohorte était de 3,3% (260/7929), ce qui représente un nombre significatif de femmes chez qui le modèle de risque proposé pourrait être bénéfique. Il s'agit de la première étude à évaluer la performance d'un modèle prédictif précoce combinant des facteurs cliniques et des marqueurs biochimiques pour identifier spécifiquement ce groupe de femmes.

Une des principales forces de ce projet est la taille considérable de la cohorte et le haut taux de recrutement, ce qui diminue le risque de biais. Le grand nombre de femmes atteintes de DG dans la cohorte a permis la création d'un modèle avec plusieurs variables. L'étude de validation des modèles de la littérature a permis d'identifier des facteurs cliniques prédictifs du DG. Les autres variables (cliniques et biochimiques) ont été choisies au préalable en se basant sur les données disponibles dans la littérature. Pour l'étude cas-témoins, nous avons utilisé le plus petit nombre possible de critères d'appariement (seulement l'âge gestationnel et la durée de conservation des échantillons) afin de limiter les risques de biais de sélection. La robustesse des modèles obtenus a été confirmée par *bootstrapping*. Une excellente stabilité des variables les plus prédictives a été observée. La performance des modèles a aussi été évaluée par *bootstrapping* pour assurer la validité interne.

La variabilité des critères diagnostiques à travers le monde, ajoutée au fait qu'une HGOP n'a pas été effectuée chez toutes les participantes, constituent des limitations, mais l'inclusion de toutes les femmes qui ont nécessité une insulinothérapie pour la première fois durant la grossesse a permis d'utiliser un critère objectif pour identifier les femmes avec un DG sévère. Des données sur les facteurs de risque n'étaient pas disponibles pour certaines participantes. Les résultats devront être validés dans d'autres populations avec des origines ethniques plus diversifiées et/ou une prévalence différente de DG.

Le diabète gestationnel est actuellement diagnostiqué tard en grossesse, le plus souvent au troisième trimestre, ce qui limite les possibilités d'interventions précoces. Un modèle prédictif tel que celui proposé permettrait d'identifier les femmes à risque plus tôt en grossesse. L'intervalle entre 14 et 17 semaines de grossesse offre l'opportunité de profiter des programmes de dépistage déjà en place, comme celui pour le dépistage de la trisomie 21. La plupart des femmes enceintes participent à ce programme pré-natal de dépistage et

ont donc déjà des prélèvements sanguins à ce moment. Il suffirait d'ajouter les biomarqueurs proposés, qui sont actuellement facilement mesurables par des appareils automatisés et ne requièrent pas de conditions préalables particulières (le jeûne n'est entre autres pas nécessaire).

Les femmes identifiées comme étant à risque élevé de développer un DG pourraient alors être référées dès le début du deuxième trimestre à une clinique spécialisée pour un suivi personnalisé. Des conseils et un suivi avec des nutritionnistes ainsi qu'un programme d'exercice physique de façon à limiter le gain de poids et le développement de la résistance à l'insuline leur seraient alors proposés. Des visites plus fréquentes et un suivi de la glycémie pourraient également permettre d'identifier plus tôt le DG et de débiter un traitement à l'insuline lorsqu'indiqué de façon à diminuer le risque de complications comme la macrosomie.

À plus court terme, les modèles pourraient servir à identifier des femmes à haut risque dans le cadre d'études d'intervention visant à prévenir le développement du DG et de ses complications. D'autres marqueurs, qui pourraient éventuellement être disponibles sur des plateformes automatisés, comme par exemple l'adiponectine, le TNF α et le PAI-1, pourraient permettre d'améliorer encore davantage les performances des modèles dans le futur.

En conclusion, ce projet a permis d'identifier des facteurs prédictifs du diabète gestationnel facilement identifiables tôt en grossesse et de développer des modèles de risque, ouvrant la voie au développement d'une nouvelle stratégie de dépistage. Une fois validés dans une population indépendante, les outils proposés permettront une meilleure prise en charge des femmes à haut risque afin de prévenir le diabète gestationnel et ses complications.

Bibliographie

1. Goldenberg R, Punthakee Z. Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes, Prediabetes and Metabolic Syndrome. *Canadian Journal of Diabetes*. 2013;37, Supplement 1(0):S8-S11.
2. Landon MB, Gabbe SG. Gestational diabetes mellitus. *Obstetrics and gynecology*. 2011 Dec;118(6):1379-93. PubMed PMID: 22105269.
3. Schneider S, Bock C, Wetzell M, Maul H, Loerbroks A. The prevalence of gestational diabetes in advanced economies. *Journal of perinatal medicine*. 2012 Sep;40(5):511-20. PubMed PMID: 23120759.
4. Urquia M, Glazier RH, Berger H, Ying I, De Souza L, Ray JG. Gestational diabetes among immigrant women. *Epidemiology (Cambridge, Mass)*. 2011 Nov;22(6):879-80. PubMed PMID: 21968784.
5. Getahun D, Nath C, Ananth CV, Chavez MR, Smulian JC. Gestational diabetes in the United States: temporal trends 1989 through 2004. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2008 May;198(5):525 e1-5. PubMed PMID: 18279822.
6. Beucher G, Viaris de Lesegno B, Dreyfus M. Maternal outcome of gestational diabetes mellitus. *Diabetes & metabolism*. 2010 Dec;36(6 Pt 2):522-37. PubMed PMID: 21163418.
7. Mitanchez D. Foetal and neonatal complications in gestational diabetes: perinatal mortality, congenital malformations, macrosomia, shoulder dystocia, birth injuries, neonatal complications. *Diabetes & metabolism*. 2010 Dec;36(6 Pt 2):617-27. PubMed PMID: 21163425.
8. Verier-Mine O. Outcomes in women with a history of gestational diabetes. Screening and prevention of type 2 diabetes. Literature review. *Diabetes & metabolism*. 2010 Dec;36(6 Pt 2):595-616. PubMed PMID: 21163424.
9. Burguet A. Long-term outcome in children of mothers with gestational diabetes. *Diabetes & metabolism*. 2010 Dec;36(6 Pt 2):682-94. PubMed PMID: 21163430.
10. Ehrenberg HM, Mercer BM, Catalano PM. The influence of obesity and diabetes on the prevalence of macrosomia. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2004 Sep;191(3):964-8. PubMed PMID: 15467573.
11. Evers IM, de Valk HW, Visser GH. Risk of complications of pregnancy in women with type 1 diabetes: nationwide prospective study in the Netherlands. *BMJ (Clinical research ed)*. 2004 Apr 17;328(7445):915. PubMed PMID: 15066886. Pubmed Central PMCID: 390158.
12. Henriksen T. The macrosomic fetus: a challenge in current obstetrics. *Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica*. 2008;87(2):134-45. PubMed PMID: 18231880.
13. Chen Y, Quick WW, Yang W, Zhang Y, Baldwin A, Moran J, et al. Cost of gestational diabetes mellitus in the United States in 2007. *Popul Health Manag*. 2009 Jun;12(3):165-74. PubMed PMID: 19534581.

14. Kolu P, Raitanen J, Rissanen P, Luoto R. Health care costs associated with gestational diabetes mellitus among high-risk women - results from a randomised trial. *BMC pregnancy and childbirth*. 2012 Jul 24;12(1):71. PubMed PMID: 22827919.
15. Gillespie P, Cullinan J, O'Neill C, Dunne F. Modeling the Independent Effects of Gestational Diabetes Mellitus on Maternity Care and Costs. *Diabetes care*. 2012 Dec 28. PubMed PMID: 23275358.
16. Canadian Diabetes Association Clinical Practice Guidelines Expert Committee. Canadian Diabetes Association 2008 Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Management of Diabetes in Canada. *Can J Diabetes*. 2008;32 (suppl. 1)(Supplement 1):S1-S201.
17. Thompson D, Berger H, Feig D, Gagnon R, Kader T, Keely E, et al. Diabetes and Pregnancy. *Canadian Journal of Diabetes*. 2013 4//;37, Supplement 1(0):S168-S83.
18. Guedj AM. When should screening be performed for gestational diabetes? *Diabetes & metabolism*. 2010 Dec;36(6 Pt 2):652-7. PubMed PMID: 21163427.
19. Nolan CJ. Controversies in gestational diabetes. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2011 Feb;25(1):37-49. PubMed PMID: 21115402.
20. Crowther CA, Hiller JE, Moss JR, McPhee AJ, Jeffries WS, Robinson JS. Effect of treatment of gestational diabetes mellitus on pregnancy outcomes. *The New England journal of medicine*. 2005 Jun 16;352(24):2477-86. PubMed PMID: 15951574.
21. Horvath K, Koch K, Jeitler K, Matyas E, Bender R, Bastian H, et al. Effects of treatment in women with gestational diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis. *BMJ (Clinical research ed)*. 2010;340:c1395. PubMed PMID: 20360215.
22. Landon MB, Spong CY, Thom E, Carpenter MW, Ramin SM, Casey B, et al. A multicenter, randomized trial of treatment for mild gestational diabetes. *The New England journal of medicine*. 2009 Oct 1;361(14):1339-48. PubMed PMID: 19797280.
23. Oostdam N, van Poppel MN, Wouters MG, van Mechelen W. Interventions for preventing gestational diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Journal of women's health (2002)*. 2011 Oct;20(10):1551-63. PubMed PMID: 21838525.
24. Jacqueminet S, Jannot-Lamotte MF. Therapeutic management of gestational diabetes. *Diabetes & metabolism*. 2010 Dec;36(6 Pt 2):658-71. PubMed PMID: 21163428.
25. Kasper D, Braunwald E, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson J. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16th edition ed2005.
26. Jiwani A, Marseille E, Lohse N, Damm P, Hod M, Kahn JG. Gestational diabetes mellitus: results from a survey of country prevalence and practices. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2012 Jun;25(6):600-10. PubMed PMID: 21762003.
27. Buckley BS, Harreiter J, Damm P, Corcoy R, Chico A, Simmons D, et al. Gestational diabetes mellitus in Europe: prevalence, current screening practice and barriers to screening. A review. *Diabet Med*. 2012 Jul;29(7):844-54. PubMed PMID: 22150506.

28. Harris SB, Caulfield LE, Sugamori ME, Whalen EA, Henning B. The epidemiology of diabetes in pregnant Native Canadians. A risk profile. *Diabetes care*. 1997 Sep;20(9):1422-5. PubMed PMID: 9283790.
29. Dyck R, Klomp H, Tan LK, Turnell RW, Boctor MA. A comparison of rates, risk factors, and outcomes of gestational diabetes between aboriginal and non-aboriginal women in the Saskatoon health district. *Diabetes care*. 2002 Mar;25(3):487-93. PubMed PMID: 11874935.
30. Ferrara A. Increasing prevalence of gestational diabetes mellitus: a public health perspective. *Diabetes care*. 2007 Jul;30 Suppl 2:S141-6. PubMed PMID: 17596462.
31. Aljohani N, Rempel BM, Ludwig S, Morris M, McQuillen K, Cheang M, et al. Gestational diabetes in Manitoba during a twenty-year period. *Clinical and investigative medicine Medecine clinique et experimentale*. 2008;31(3):E131-7. PubMed PMID: 18544276.
32. Harlev A, Wiznitzer A. New insights on glucose pathophysiology in gestational diabetes and insulin resistance. *Current diabetes reports*. 2010 Jun;10(3):242-7. PubMed PMID: 20425589.
33. Newbern D, Freemark M. Placental hormones and the control of maternal metabolism and fetal growth. *Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity*. 2011 Dec;18(6):409-16. PubMed PMID: 21986512.
34. Catalano PM, Tyzbir ED, Wolfe RR, Calles J, Roman NM, Amini SB, et al. Carbohydrate metabolism during pregnancy in control subjects and women with gestational diabetes. *The American journal of physiology*. 1993 Jan;264(1 Pt 1):E60-7. PubMed PMID: 8430789.
35. Homko C, Sivan E, Chen X, Reece EA, Boden G. Insulin secretion during and after pregnancy in patients with gestational diabetes mellitus. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2001 Feb;86(2):568-73. PubMed PMID: 11158010.
36. Buchanan TA. Pancreatic B-cell defects in gestational diabetes: implications for the pathogenesis and prevention of type 2 diabetes. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2001 Mar;86(3):989-93. PubMed PMID: 11238474.
37. Grewal E, Kansara S, Kachhawa G, Ammini AC, Kriplani A, Aggarwal N, et al. Prediction of gestational diabetes mellitus at 24 to 28 weeks of gestation by using first-trimester insulin sensitivity indices in Asian Indian subjects. *Metabolism: clinical and experimental*. 2012 May;61(5):715-20. PubMed PMID: 22146095.
38. Plasencia W, Garcia R, Pereira S, Akolekar R, Nicolaides KH. Criteria for Screening and Diagnosis of Gestational Diabetes Mellitus in the First Trimester of Pregnancy. *Fetal diagnosis and therapy*. 2011 Apr 1. PubMed PMID: 21454960.
39. Riskin-Mashiah S, Damti A, Younes G, Auslender R. First trimester fasting hyperglycemia as a predictor for the development of gestational diabetes mellitus. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2010 Oct;152(2):163-7. PubMed PMID: 20579799.

40. Saisho Y, Miyakoshi K, Ikenoue S, Kasuga Y, Matsumoto T, Minegishi K, et al. Marked decline in beta cell function during pregnancy leads to the development of glucose intolerance in Japanese women. *Endocrine journal*. 2012 Dec 28. PubMed PMID: 23292170.
41. Mao H, Li Q, Gao S. Meta-analysis of the relationship between common type 2 diabetes risk gene variants with gestational diabetes mellitus. *PloS one*. 2012;7(9):e45882. PubMed PMID: 23029294.
42. Shaat N, Groop L. Genetics of gestational diabetes mellitus. *Current medicinal chemistry*. 2007;14(5):569-83. PubMed PMID: 17346148.
43. Hoffman L, Nolan C, Wilson JD, Oats JJ, Simmons D. Gestational diabetes mellitus--management guidelines. The Australasian Diabetes in Pregnancy Society. *The Medical journal of Australia*. 1998 Jul 20;169(2):93-7. PubMed PMID: 9700346.
44. Walker JD. NICE guidance on diabetes in pregnancy: management of diabetes and its complications from preconception to the postnatal period. NICE clinical guideline 63. London, March 2008. *Diabet Med*. 2008 Sep;25(9):1025-7. PubMed PMID: 19183306.
45. Galtier F. Definition, epidemiology, risk factors. *Diabetes & metabolism*. 2010 Dec;36(6 Pt 2):628-51. PubMed PMID: 21163426.
46. Kim C, Berger DK, Chamany S. Recurrence of gestational diabetes mellitus: a systematic review. *Diabetes care*. 2007 May;30(5):1314-9. PubMed PMID: 17290037.
47. Rauh-Hain JA, Rana S, Tamez H, Wang A, Cohen B, Cohen A, et al. Risk for developing gestational diabetes in women with twin pregnancies. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2009 Apr;22(4):293-9. PubMed PMID: 19340713.
48. Villamor E, Cnattingius S. Interpregnancy weight change and risk of adverse pregnancy outcomes: a population-based study. *Lancet*. 2006 Sep 30;368(9542):1164-70. PubMed PMID: 17011943.
49. Morisset AS, Tchernof A, Dube MC, Veillette J, Weisnagel SJ, Robitaille J. Weight gain measures in women with gestational diabetes mellitus. *Journal of women's health (2002)*. 2011 Mar;20(3):375-80. PubMed PMID: 21332414.
50. Chen L, Hu FB, Yeung E, Willett W, Zhang C. Prospective study of pre-gravid sugar-sweetened beverage consumption and the risk of gestational diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2009 Dec;32(12):2236-41. PubMed PMID: 19940226. Pubmed Central PMCID: PMC2782983.
51. Tobias DK, Zhang C, van Dam RM, Bowers K, Hu FB. Physical activity before and during pregnancy and risk of gestational diabetes mellitus: a meta-analysis. *Diabetes care*. 2011 Jan;34(1):223-9. PubMed PMID: 20876206. Pubmed Central PMCID: PMC3005457.
52. Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet*. 2005 Feb 26-Mar 4;365(9461):785-99. PubMed PMID: 15733721.
53. Pedersen J. Weight and length at birth of infants of diabetic mothers. *Acta endocrinologica*. 1954 Aug;16(4):330-42. PubMed PMID: 13206643.

54. Carpenter MW, Canick JA, Hogan JW, Shellum C, Somers M, Star JA. Amniotic fluid insulin at 14-20 weeks' gestation: association with later maternal glucose intolerance and birth macrosomia. *Diabetes care*. 2001 Jul;24(7):1259-63. PubMed PMID: 11423512.
55. Tisi DK, Burns DH, Luskey GW, Koski KG. Fetal exposure to altered amniotic fluid glucose, insulin, and insulin-like growth factor-binding protein 1 occurs before screening for gestational diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2011 Jan;34(1):139-44. PubMed PMID: 20855548.
56. Zhang X, Decker A, Platt RW, Kramer MS. How big is too big? The perinatal consequences of fetal macrosomia. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2008 May;198(5):517 e1-6. PubMed PMID: 18455528.
57. Ostlund I, Hanson U, Bjorklund A, Hjertberg R, Eva N, Nordlander E, et al. Maternal and fetal outcomes if gestational impaired glucose tolerance is not treated. *Diabetes care*. 2003 Jul;26(7):2107-11. PubMed PMID: 12832321.
58. Blachier A, Alberti C, Korb D, Schmitz T, Patrick V, Christine B, et al. Diet or medically treated gestational diabetes: is there any difference for obstetrical and neonatal complications? A French cohort study. *Journal of perinatal medicine*. 2013 Nov 16:1-5. PubMed PMID: 24246283.
59. Metzger BE, Lowe LP, Dyer AR, Trimble ER, Chaovarindr U, Coustan DR, et al. Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *The New England journal of medicine*. 2008 May 8;358(19):1991-2002. PubMed PMID: 18463375.
60. Getahun D, Fassett MJ, Jacobsen SJ. Gestational diabetes: risk of recurrence in subsequent pregnancies. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2010 Nov;203(5):467 e1-6. PubMed PMID: 20630491.
61. Chodick G, Elchalal U, Sella T, Heymann AD, Porath A, Kokia E, et al. The risk of overt diabetes mellitus among women with gestational diabetes: a population-based study. *Diabet Med*. 2010 Jul;27(7):779-85. PubMed PMID: 20636958.
62. Ehrlich SF, Rosas LG, Ferrara A, King JC, Abrams B, Harley KG, et al. Pregnancy glucose levels in women without diabetes or gestational diabetes and childhood cardiometabolic risk at 7 years of age. *The Journal of pediatrics*. 2012 Dec;161(6):1016-21. PubMed PMID: 22790183.
63. Fetita LS, Sobngwi E, Serradas P, Calvo F, Gautier JF. Consequences of fetal exposure to maternal diabetes in offspring. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2006 Oct;91(10):3718-24. PubMed PMID: 16849402.
64. Clausen TD, Mathiesen ER, Hansen T, Pedersen O, Jensen DM, Lauenborg J, et al. High prevalence of type 2 diabetes and pre-diabetes in adult offspring of women with gestational diabetes mellitus or type 1 diabetes: the role of intrauterine hyperglycemia. *Diabetes care*. 2008 Feb;31(2):340-6. PubMed PMID: 18000174.
65. Kolu P, Raitanen J, Luoto R. Cost of gestational diabetes-related antenatal visits in health care based on the Finnish Medical Birth Register. *Primary care diabetes*. 2011 Jul;5(2):139-41. PubMed PMID: 21292576.

66. Gillespie P, O'Neill C, Avalos G, Dunne FP. New estimates of the costs of universal screening for gestational diabetes mellitus in Ireland. *Irish medical journal*. 2012 May;105(5 Suppl):15-8. PubMed PMID: 22838102.
67. Anderberg E, Carlsson KS, Berntorp K. Use of healthcare resources after gestational diabetes mellitus: a longitudinal case-control analysis. *Scandinavian journal of public health*. 2012 Jun;40(4):385-90. PubMed PMID: 22786924.
68. Halperin IJ, Feig DS. The role of lifestyle interventions in the prevention of gestational diabetes. *Current diabetes reports*. 2014 Jan;14(1):452. PubMed PMID: 24318074.
69. Thangaratinam S, Rogozinska E, Jolly K, Glinkowski S, Roseboom T, Tomlinson JW, et al. Effects of interventions in pregnancy on maternal weight and obstetric outcomes: meta-analysis of randomised evidence. *BMJ (Clinical research ed)*. 2012;344:e2088. PubMed PMID: 22596383.
70. Harrison C, Lombard C, Strauss BJ, Teede HJ. Optimising healthy gestational weight gain in women at high risk of gestational diabetes: a randomised controlled trial. *Obesity*. 2012.
71. Quinlivan JA, Lam LT, Fisher J. A randomised trial of a four-step multidisciplinary approach to the antenatal care of obese pregnant women. *The Australian & New Zealand journal of obstetrics & gynaecology*. 2011 Apr;51(2):141-6. PubMed PMID: 21466516.
72. Maher N, McAuliffe F, Foley M. The benefit of early treatment without rescreening in women with a history of gestational diabetes. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2013 Feb;26(3):318-20. PubMed PMID: 23039851.
73. Han S, Crowther CA, Middleton P. Interventions for pregnant women with hyperglycaemia not meeting gestational diabetes and type 2 diabetes diagnostic criteria. *Cochrane database of systematic reviews (Online)*. 2012;1:CD009037. PubMed PMID: 22258997.
74. Maymone AC, Baillargeon JP, Menard J, Ardilouze JL. Oral hypoglycemic agents for gestational diabetes mellitus? Expert opinion on drug safety. 2011 Mar;10(2):227-38. PubMed PMID: 21210750.
75. Nicholson W, Baptiste-Roberts K. Oral hypoglycaemic agents during pregnancy: The evidence for effectiveness and safety. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2011 Feb;25(1):51-63. PubMed PMID: 21251886.
76. Ratner RE, Christophi CA, Metzger BE, Dabelea D, Bennett PH, Pi-Sunyer X, et al. Prevention of diabetes in women with a history of gestational diabetes: effects of metformin and lifestyle interventions. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2008 Dec;93(12):4774-9. PubMed PMID: 18826999.
77. Doyle MA, Khan S, Al-Mohanadi D, Keely E. International survey on gestational diabetes. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2012 Oct;25(10):2035-8. PubMed PMID: 22384941.

78. Meltzer SJ, Snyder J, Penrod JR, Nudi M, Morin L. Gestational diabetes mellitus screening and diagnosis: a prospective randomised controlled trial comparing costs of one-step and two-step methods. *Bjog*. 2010 Mar;117(4):407-15. PubMed PMID: 20105163.
79. Metzger BE, Gabbe SG, Persson B, Buchanan TA, Catalano PA, Damm P, et al. International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. *Diabetes care*. 2010 Mar;33(3):676-82. PubMed PMID: 20190296.
80. Blackwell SC. Counterpoint: enough evidence to treat? The american college of obstetricians and gynecologists guidelines. *Clinical chemistry*. 2012 Jul;58(7):1098-100. PubMed PMID: 22586324.
81. Coustan DR. Point: the american diabetes association and the international association of diabetes and pregnancy study groups recommendations for diagnosing gestational diabetes should be used worldwide. *Clinical chemistry*. 2012 Jul;58(7):1094-7. PubMed PMID: 22529107.
82. Ryan EA. Diagnosing gestational diabetes. *Diabetologia*. 2011 Mar;54(3):480-6. PubMed PMID: 21203743.
83. Ryan EA. Diagnostic criteria for gestational diabetes: Who decides? *Cmaj*. 2012 Sep 4;184(12):1341-2. PubMed PMID: 22619334.
84. Long H, Cundy T. Establishing Consensus in the Diagnosis of Gestational Diabetes Following HAPO: Where Do We Stand? *Current diabetes reports*. 2012 Oct 10. PubMed PMID: 23054748.
85. McIntyre HD. Diagnosing gestational diabetes mellitus: rationed or rationally related to risk? *Diabetes care*. 2013 Oct;36(10):2879-80. PubMed PMID: 24065840. Pubmed Central PMCID: PMC3781537.
86. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes--2013. *Diabetes care*. 2013 Jan;36 Suppl 1:S11-66. PubMed PMID: 23264422. Pubmed Central PMCID: PMC3537269.
87. American College of Obstetricians and Gynecologists. Screening and diagnosis of gestational diabetes mellitus. Committee Opinion No.504. *Obstetrics and gynecology*. 2011 Sep;118(3):751-3. PubMed PMID: 21860317.
88. National Institutes of Health consensus development conference statement: diagnosing gestational diabetes mellitus, March 4-6, 2013. *Obstetrics and gynecology*. 2013 Aug;122(2 Pt 1):358-69. PubMed PMID: 23969806.
89. Ryan EA. Clinical Diagnosis of Gestational Diabetes. *Clinical obstetrics and gynecology*. 2013 Sep 3. PubMed PMID: 24005127.
90. Visser GH, de Valk HW. Is the evidence strong enough to change the diagnostic criteria for gestational diabetes now? *American journal of obstetrics and gynecology*. 2013 Apr;208(4):260-4. PubMed PMID: 23103371.
91. Bartha JL, Martinez-Del-Fresno P, Comino-Delgado R. Early diagnosis of gestational diabetes mellitus and prevention of diabetes-related complications. *European*

journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology. 2003 Jul 1;109(1):41-4. PubMed PMID: 12818441.

92. Hammoud NM, de Valk HW, Biesma DH, Visser G. Gestational diabetes mellitus diagnosed by screening or symptoms: does it matter? *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012 Sep 3. PubMed PMID: 22937897.

93. Seshiah V, Cynthia A, Balaji V, Balaji MS, Ashalata S, Sheela R, et al. Detection and care of women with gestational diabetes mellitus from early weeks of pregnancy results in birth weight of newborn babies appropriate for gestational age. *Diabetes research and clinical practice.* 2008 May;80(2):199-202. PubMed PMID: 18249458.

94. Barahona MJ, Sucunza N, Garcia-Patterson A, Hernandez M, Adelantado JM, Ginovart G, et al. Period of gestational diabetes mellitus diagnosis and maternal and fetal morbidity. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica.* 2005 Jul;84(7):622-7. PubMed PMID: 15954869.

95. Hawkins JS, Lo JY, Casey BM, McIntire DD, Leveno KJ. Diet-treated gestational diabetes mellitus: comparison of early vs routine diagnosis. *American journal of obstetrics and gynecology.* 2008 Mar;198(3):287 e1-6. PubMed PMID: 18313450.

96. Mills JL, Jovanovic L, Knopp R, Aarons J, Conley M, Park E, et al. Physiological reduction in fasting plasma glucose concentration in the first trimester of normal pregnancy: the diabetes in early pregnancy study. *Metabolism: clinical and experimental.* 1998 Sep;47(9):1140-4. PubMed PMID: 9751245.

97. Nielsen LR, Ekblom P, Damm P, Glumer C, Frandsen MM, Jensen DM, et al. HbA1c levels are significantly lower in early and late pregnancy. *Diabetes care.* 2004 May;27(5):1200-1. PubMed PMID: 15111545.

98. Agarwal MM, Dhath GS, Punnose J, Zayed R. Gestational diabetes: fasting and postprandial glucose as first prenatal screening tests in a high-risk population. *The Journal of reproductive medicine.* 2007 Apr;52(4):299-305. PubMed PMID: 17506370.

99. Persson M, Winkvist A, Mogren I. Surprisingly low compliance to local guidelines for risk factor based screening for gestational diabetes mellitus - A population-based study. *BMC pregnancy and childbirth.* 2009;9:53. PubMed PMID: 19917091.

100. Phaloprakarn C, Tangjitgamol S. Use of oral glucose tolerance test in early pregnancy to predict late-onset gestational diabetes mellitus in high-risk women. *The journal of obstetrics and gynaecology research.* 2008 Jun;34(3):331-6. PubMed PMID: 18686344.

101. Naylor CD, Sermer M, Chen E, Farine D. Selective screening for gestational diabetes mellitus. Toronto Trihospital Gestational Diabetes Project Investigators. *The New England journal of medicine.* 1997 Nov 27;337(22):1591-6. PubMed PMID: 9371855.

102. van Leeuwen M, Opmeer BC, Zweers EJ, van Ballegooie E, ter Brugge HG, de Valk HW, et al. External validation of a clinical scoring system for the risk of gestational diabetes mellitus. *Diabetes research and clinical practice.* 2009 Jul;85(1):96-101. PubMed PMID: 19477547.

103. Caliskan E, Kayikcioglu F, Ozturk N, Koc S, Haberal A. A population-based risk factor scoring will decrease unnecessary testing for the diagnosis of gestational diabetes mellitus. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*. 2004 Jun;83(6):524-30. PubMed PMID: 15144332.
104. van Leeuwen M, Opmeer BC, Zweers EJ, van Ballegooie E, ter Brugge HG, de Valk HW, et al. Estimating the risk of gestational diabetes mellitus: a clinical prediction model based on patient characteristics and medical history. *Bjog*. 2010 Jan;117(1):69-75. PubMed PMID: 20002371.
105. Teede HJ, Harrison CL, Teh WT, Paul E, Allan CA. Gestational diabetes: development of an early risk prediction tool to facilitate opportunities for prevention. *The Australian & New Zealand journal of obstetrics & gynaecology*. 2011 Dec;51(6):499-504. PubMed PMID: 21951203.
106. Sapienza AD, Francisco RP, Trindade TC, Zugaib M. Factors predicting the need for insulin therapy in patients with gestational diabetes mellitus. *Diabetes research and clinical practice*. 2010 Apr;88(1):81-6. PubMed PMID: 20071050.
107. Clayton W, Agarwal N, Wang L, Jagasia S. Clinical Markers Implying the Need for Treatment in Patients with Gestational Diabetes. *Endocr Pract*. 2011 Aug 19:1-11. PubMed PMID: 21856598.
108. Gonzalez-Quintero VH, Istwan NB, Rhea DJ, Tudela CM, Flick AA, de la Torre L, et al. Antenatal factors predicting subsequent need for insulin treatment in women with gestational diabetes. *Journal of women's health (2002)*. 2008 Sep;17(7):1183-7. PubMed PMID: 18774897.
109. Wong VW, Jalaludin B. Gestational diabetes mellitus: who requires insulin therapy? *The Australian & New Zealand journal of obstetrics & gynaecology*. 2011 Oct;51(5):432-6. PubMed PMID: 21806589.
110. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 5th Edition ed2012.
111. Consensus statement on the worldwide standardisation of the HbA1c measurement. *Diabetologia*. 2007 Oct;50(10):2042-3. PubMed PMID: 17712546.
112. Balaji V, Madhuri BS, Ashalatha S, Sheela S, Suresh S, Seshiah V. A1C in gestational diabetes mellitus in Asian Indian women. *Diabetes care*. 2007 Jul;30(7):1865-7. PubMed PMID: 17416790.
113. Leipold H, Worda C, Ozbal A, Husslein P, Krampl E. First-trimester nuchal translucency screening in pregnant women who subsequently developed gestational diabetes. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*. 2005 Oct;12(7):529-32. PubMed PMID: 16046155.
114. Le TN, Nestler JE, Strauss JF, 3rd, Wickham EP, 3rd. Sex hormone-binding globulin and type 2 diabetes mellitus. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 2012 Jan;23(1):32-40. PubMed PMID: 22047952. Pubmed Central PMCID: PMC3351377.

115. Peter A, Kantartzis K, Machann J, Schick F, Staiger H, Machicao F, et al. Relationships of circulating sex hormone-binding globulin with metabolic traits in humans. *Diabetes*. 2010 Dec;59(12):3167-73. PubMed PMID: 20841609. Pubmed Central PMCID: PMC2992779.
116. Smirnakis KV, Plati A, Wolf M, Thadhani R, Ecker JL. Predicting gestational diabetes: choosing the optimal early serum marker. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2007 Apr;196(4):410 e1-6; discussion e6-7. PubMed PMID: 17403439.
117. Thadhani R, Wolf M, Hsu-Blatman K, Sandler L, Nathan D, Ecker JL. First-trimester sex hormone binding globulin and subsequent gestational diabetes mellitus. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2003 Jul;189(1):171-6. PubMed PMID: 12861158.
118. Caglar GS, Ozdemir ED, Cengiz SD, Demirtas S. Sex-hormone-binding globulin early in pregnancy for the prediction of severe gestational diabetes mellitus and related complications. *The journal of obstetrics and gynaecology research*. 2012 May 21. PubMed PMID: 22612716.
119. Agudo J, Ayuso E, Jimenez V, Casellas A, Mallol C, Salavert A, et al. Vascular endothelial growth factor-mediated islet hypervascularization and inflammation contribute to progressive reduction of beta-cell mass. *Diabetes*. 2012 Nov;61(11):2851-61. PubMed PMID: 22961079.
120. Denison FC, Roberts KA, Barr SM, Norman JE. Obesity, pregnancy, inflammation, and vascular function. *Reproduction (Cambridge, England)*. 2010 Sep;140(3):373-85. PubMed PMID: 20215337.
121. Vrachnis N, Belitsos P, Sifakis S, Dafopoulos K, Siristatidis C, Pappa KI, et al. Role of adipokines and other inflammatory mediators in gestational diabetes mellitus and previous gestational diabetes mellitus. *International journal of endocrinology*. 2012;2012:549748. PubMed PMID: 22550485.
122. Qiu C, Sorensen TK, Luthy DA, Williams MA. A prospective study of maternal serum C-reactive protein (CRP) concentrations and risk of gestational diabetes mellitus. *Paediatric and perinatal epidemiology*. 2004 Sep;18(5):377-84. PubMed PMID: 15367325.
123. Savvidou M, Nelson SM, Makgoba M, Messow CM, Sattar N, Nicolaidis K. First-trimester prediction of gestational diabetes mellitus: examining the potential of combining maternal characteristics and laboratory measures. *Diabetes*. 2010 Dec;59(12):3017-22. PubMed PMID: 20876721.
124. Wolf M, Sandler L, Hsu K, Vossen-Smirnakis K, Ecker JL, Thadhani R. First-trimester C-reactive protein and subsequent gestational diabetes. *Diabetes care*. 2003 Mar;26(3):819-24. PubMed PMID: 12610043.
125. Samad F, Uysal KT, Wiesbrock SM, Pandey M, Hotamisligil GS, Loskutoff DJ. Tumor necrosis factor alpha is a key component in the obesity-linked elevation of plasminogen activator inhibitor 1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1999 Jun 8;96(12):6902-7. PubMed PMID: 10359811. Pubmed Central PMCID: PMC22014.

126. Lihn AS, Pedersen SB, Richelsen B. Adiponectin: action, regulation and association to insulin sensitivity. *Obes Rev.* 2005 Feb;6(1):13-21. PubMed PMID: 15655035.
127. Altinova AE, Toruner F, Bozkurt N, Bukan N, Karakoc A, Yetkin I, et al. Circulating concentrations of adiponectin and tumor necrosis factor-alpha in gestational diabetes mellitus. *Gynecol Endocrinol.* 2007 Mar;23(3):161-5. PubMed PMID: 17454170.
128. Gao XL, Yang HX, Zhao Y. Variations of tumor necrosis factor-alpha, leptin and adiponectin in mid-trimester of gestational diabetes mellitus. *Chinese medical journal.* 2008 Apr 20;121(8):701-5. PubMed PMID: 18701022.
129. Salmi AA, Zaki NM, Zakaria R, Nor Aliza AG, Rasool AH. Arterial stiffness, inflammatory and pro-atherogenic markers in gestational diabetes mellitus. *VASA Zeitschrift fur Gefasskrankheiten.* 2012 Mar;41(2):96-104. PubMed PMID: 22403127.
130. Ategbo JM, Grissa O, Yessoufou A, Hichami A, Dramane KL, Moutairou K, et al. Modulation of adipokines and cytokines in gestational diabetes and macrosomia. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2006 Oct;91(10):4137-43. PubMed PMID: 16849405.
131. Kinalski M, Telejko B, Kuzmicki M, Kretowski A, Kinalska I. Tumor necrosis factor alpha system and plasma adiponectin concentration in women with gestational diabetes. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme.* 2005 Jul;37(7):450-4. PubMed PMID: 16034719.
132. McLachlan KA, O'Neal D, Jenkins A, Alford FP. Do adiponectin, TNFalpha, leptin and CRP relate to insulin resistance in pregnancy? Studies in women with and without gestational diabetes, during and after pregnancy. *Diabetes/metabolism research and reviews.* 2006 Mar-Apr;22(2):131-8. PubMed PMID: 16170833.
133. Lain KY, Daftary AR, Ness RB, Roberts JM. First trimester adipocytokine concentrations and risk of developing gestational diabetes later in pregnancy. *Clinical endocrinology.* 2008 Sep;69(3):407-11. PubMed PMID: 18284645.
134. Miehle K, Stepan H, Fasshauer M. Leptin, adiponectin and other adipokines in gestational diabetes mellitus and pre-eclampsia. *Clinical endocrinology.* 2012 Jan;76(1):2-11. PubMed PMID: 21951069.
135. Rasanen JP, Snyder CK, Rao PV, Mihalache R, Heinonen S, Gravett MG, et al. Glycosylated fibronectin as a first-trimester biomarker for prediction of gestational diabetes. *Obstetrics and gynecology.* 2013 Sep;122(3):586-94. PubMed PMID: 23921871.
136. Watanabe N, Morimoto S, Fujiwara T, Suzuki T, Taniguchi K, Mori F, et al. Prediction of Gestational Diabetes Mellitus by Soluble (Pro)Renin Receptor During the First Trimester. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2013 May 29. PubMed PMID: 23720787.
137. Savvidou MD, Syngelaki A, Muhaisen M, Emelyanenko E, Nicolaides KH. First trimester maternal serum free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein A in pregnancies complicated by diabetes mellitus. *Bjog.* 2012 Mar;119(4):410-6. PubMed PMID: 22324916.

138. Nanda S, Savvidou M, Syngelaki A, Akolekar R, Nicolaides KH. Prediction of gestational diabetes mellitus by maternal factors and biomarkers at 11 to 13 weeks. *Prenatal diagnosis*. 2011 Feb;31(2):135-41. PubMed PMID: 21268030.
139. Ferreira AF, Rezende JC, Vaikousi E, Akolekar R, Nicolaides KH. Maternal serum visfatin at 11-13 weeks of gestation in gestational diabetes mellitus. *Clinical chemistry*. 2011 Apr;57(4):609-13. PubMed PMID: 21325104.
140. Lovati E, Beneventi F, Simonetta M, Laneri M, Quarleri L, Scudeller L, et al. Gestational diabetes mellitus: including serum pregnancy-associated plasma protein-A testing in the clinical management of primiparous women? A case-control study. *Diabetes research and clinical practice*. 2013 Jun;100(3):340-7. PubMed PMID: 23642968.
141. Vickers AJ, Cronin AM, Begg CB. One statistical test is sufficient for assessing new predictive markers. *BMC medical research methodology*. 2011;11:13. PubMed PMID: 21276237. Pubmed Central PMCID: PMC3042425.
142. Ohman EM, Granger CB, Harrington RA, Lee KL. Risk stratification and therapeutic decision making in acute coronary syndromes. *JAMA*. 2000 Aug 16;284(7):876-8. PubMed PMID: 10938178.
143. Thompson IM, Ankerst DP, Chi C, Lucia MS, Goodman PJ, Crowley JJ, et al. Operating characteristics of prostate-specific antigen in men with an initial PSA level of 3.0 ng/ml or lower. *JAMA*. 2005 Jul 6;294(1):66-70. PubMed PMID: 15998892.
144. Bonaca MP, Ruff CT, Kosowsky J, Conrad MJ, Murphy SA, Sabatine MS, et al. Evaluation of the diagnostic performance of current and next-generation assays for cardiac troponin I in the BWH-TIMI ED Chest Pain Study. *European heart journal Acute cardiovascular care*. 2013 Sep;2(3):195-202. PubMed PMID: 24222830. Pubmed Central PMCID: PMC3821818.
145. Jaffe AS, Babuin L, Apple FS. Biomarkers in acute cardiac disease: the present and the future. *Journal of the American College of Cardiology*. 2006 Jul 4;48(1):1-11. PubMed PMID: 16814641.
146. Metzger BE, Coustan DR. Summary and recommendations of the Fourth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. The Organizing Committee. *Diabetes care*. 1998 Aug;21 Suppl 2:B161-7. PubMed PMID: 9704245.
147. Gionet NJ, Godin G. Self-reported exercise behavior of employees: a validity study. *J Occup Med*. 1989 Dec;31(12):969-73. PubMed PMID: 2614536.
148. Forest JC, Girouard J, Masse J, Moutquin JM, Kharfi A, Ness RB, et al. Early occurrence of metabolic syndrome after hypertension in pregnancy. *Obstetrics and gynecology*. 2005 Jun;105(6):1373-80. PubMed PMID: 15932832.
149. Moisan J, Meyer F, Gingras S. A nested case-control study of the correlates of early menarche. *American journal of epidemiology*. 1990 Nov;132(5):953-61. PubMed PMID: 2239910.
150. Dodin S, Lemay A, Jacques H, Legare F, Forest JC, Masse B. The effects of flaxseed dietary supplement on lipid profile, bone mineral density, and symptoms in

menopausal women: a randomized, double-blind, wheat germ placebo-controlled clinical trial. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2005 Mar;90(3):1390-7. PubMed PMID: 15613422.

151. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes--2014. *Diabetes care*. 2014 Jan;37 Suppl 1:S14-80. PubMed PMID: 24357209.

152. Theriault S, Forest JC, Masse J, Giguere Y. Validation of early risk-prediction models for gestational diabetes based on clinical characteristics. *Diabetes research and clinical practice*. 2014 Mar;103(3):419-25. PubMed PMID: 24447804.

153. Zhang C, Solomon CG, Manson JE, Hu FB. A prospective study of pregravid physical activity and sedentary behaviors in relation to the risk for gestational diabetes mellitus. *Archives of internal medicine*. 2006 Mar 13;166(5):543-8. PubMed PMID: 16534041.

154. Sauerbrei W. The Use of Resampling Methods to Simplify Regression Models in Medical Statistics. *Journal of the Royal Statistical Society: Series C (Applied Statistics)*. 1999;48(3):313-29.

155. Basu S, McKee M, Galea G, Stuckler D. Relationship of soft drink consumption to global overweight, obesity, and diabetes: a cross-national analysis of 75 countries. *American journal of public health*. 2013 Nov;103(11):2071-7. PubMed PMID: 23488503.

156. Malik VS, Popkin BM, Bray GA, Despres JP, Hu FB. Sugar-sweetened beverages, obesity, type 2 diabetes mellitus, and cardiovascular disease risk. *Circulation*. 2010 Mar 23;121(11):1356-64. PubMed PMID: 20308626. Pubmed Central PMCID: PMC2862465.

157. Malik VS, Popkin BM, Bray GA, Despres JP, Willett WC, Hu FB. Sugar-sweetened beverages and risk of metabolic syndrome and type 2 diabetes: a meta-analysis. *Diabetes care*. 2010 Nov;33(11):2477-83. PubMed PMID: 20693348. Pubmed Central PMCID: PMC2963518.

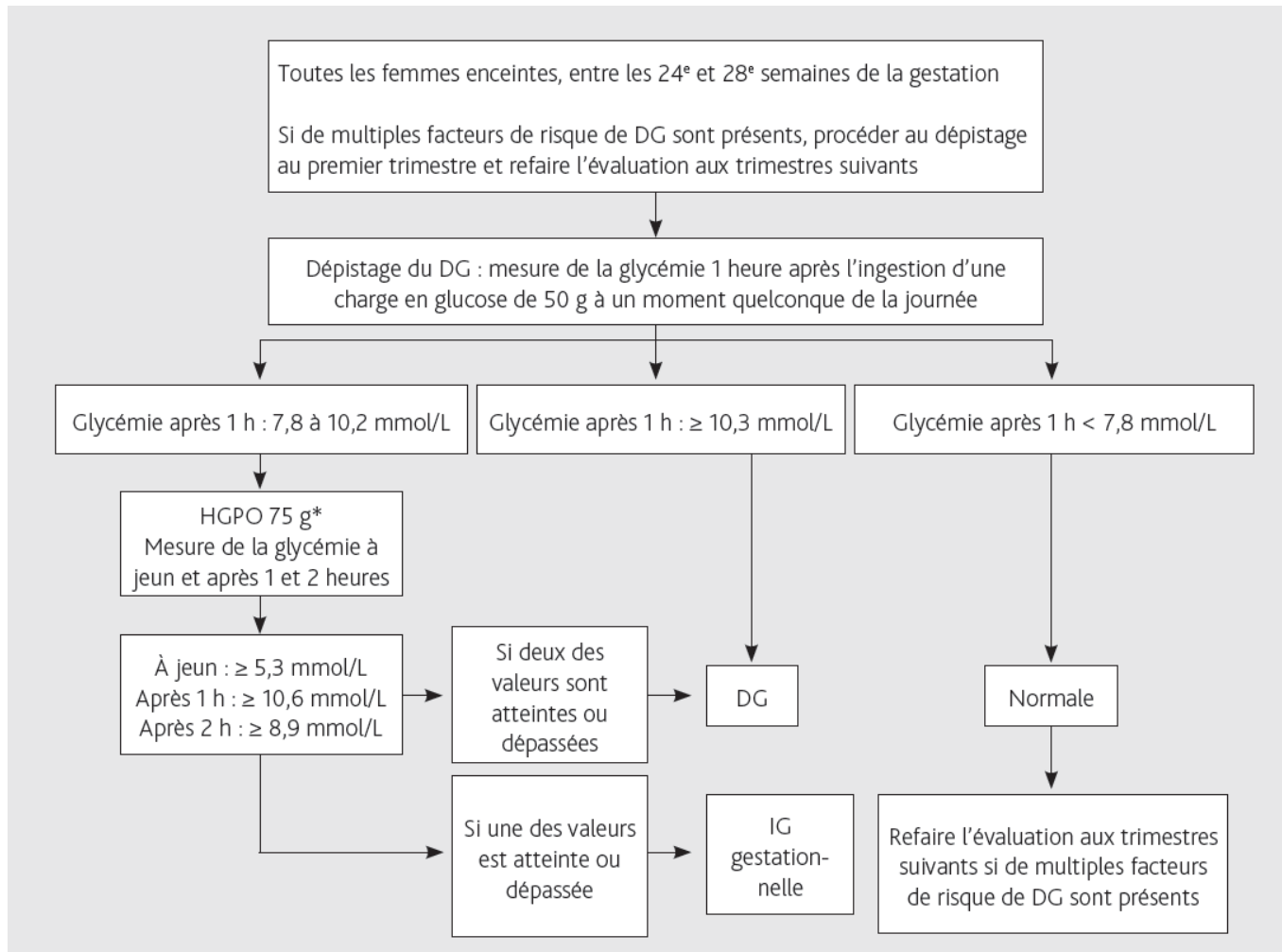
158. Ding EL, Song Y, Manson JE, Hunter DJ, Lee CC, Rifai N, et al. Sex hormone-binding globulin and risk of type 2 diabetes in women and men. *The New England journal of medicine*. 2009 Sep 17;361(12):1152-63. PubMed PMID: 19657112. Pubmed Central PMCID: PMC2774225.

159. Perry JR, Weedon MN, Langenberg C, Jackson AU, Lyssenko V, Sparso T, et al. Genetic evidence that raised sex hormone binding globulin (SHBG) levels reduce the risk of type 2 diabetes. *Human molecular genetics*. 2010 Feb 1;19(3):535-44. PubMed PMID: 19933169. Pubmed Central PMCID: PMC2798726.

160. Pertot T, Molyneaux L, Tan K, Ross GP, Yue DK, Wong J. Can We Use Common Clinical Parameters to Identify Patients Who Will Need Insulin Treatment in Gestational Diabetes? *Diabetes care*. 2011 Aug 11. PubMed PMID: 21836104.

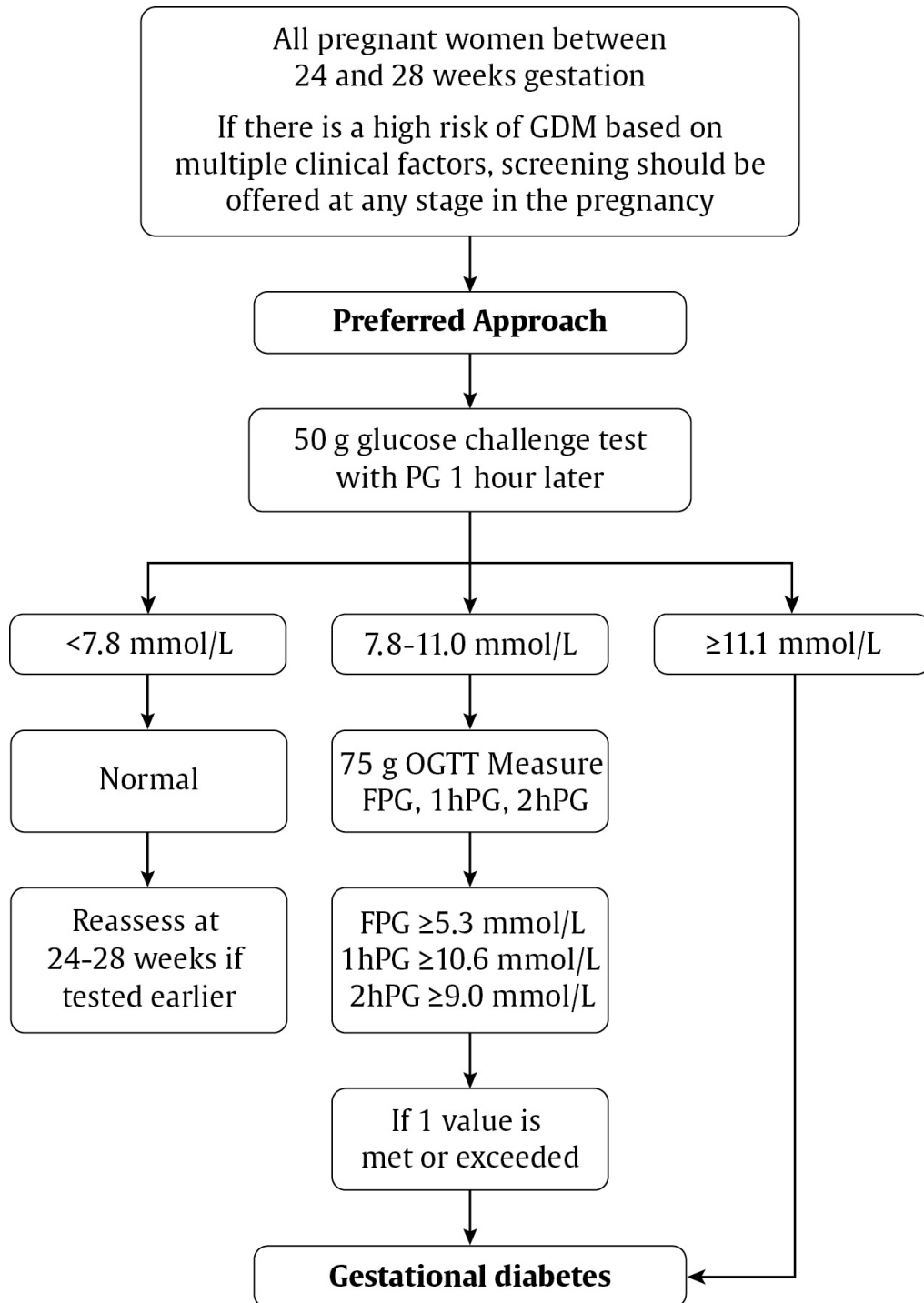
Annexes

Annexe 1 : Approche pour le dépistage et le diagnostic du diabète gestationnel selon les lignes directrices 2008 de l'Association canadienne du diabète (16)



DG : diabète gestationnel; HGPO : hyperglycémie orale provoquée; IG : Intolérance au glucose

Annexe 2 : Approche préférée pour le dépistage et le diagnostic du diabète gestationnel selon les lignes directrices 2013 de l'Association canadienne du diabète (17)



1hPG : glycémie après une heure; 2hPG : glycémie après 2 heures; FPG : glycémie à jeun; GDM : diabète gestationnel; OGTT : hyperglycémie orale provoquée; PG : glycémie

