

Originales

Leptina e insulino-terapia en la diabetes gestacional

DIEGO ÁLVAREZ BALLANO, MARÍA LUISA GRACIA RUIZ, AMAYA BARRAGÁN ANGULO, CONCEPCIÓN ZAPATA ADIEGO, JAVIER ACHA PÉREZ, JESÚS PLAYÁN USÓN, ALEJANDRO SANZ PARÍS Y RAMÓN ALBERO GAMBOA

LEPTIN AND INSULIN THERAPY IN GESTATIONAL DIABETES

Introduction: Various studies have implicated leptin in several metabolic processes, among them gestational diabetes (GD) and other pregnancy-associated alterations such as preeclampsia and uterine growth retardation. Plasma leptin levels have been observed to be higher in diabetic pregnant women than in healthy pregnant women.

Objective: To evaluate whether leptin could be a useful biochemical marker in patients with GD to predict the need for insulin therapy at diagnosis.

Patients and method: Fifty women with a diagnosis of GD between 28 and 32 weeks of pregnancy [mean age, 34.4 ± 4.5 years; body mass index (BMI), 25.4 ± 2.14 , and leptin level, 48.5 ± 16 ng/ml] were studied. The women were divided into two groups: one group was composed of 24 women with criteria for insulin therapy and the other group consisted of 26 women not requiring insulin therapy. The inclusion criteria were BMI greater than 22.5 and lower than 27 and biochemical determination between weeks 28 and 32.

Results: Maternal plasma leptin levels were significantly higher in the group requiring insulin. No differences were found in the mean age of the patients or in BMI. The odds ratio predicting the need for insulin therapy during pregnancy was 6 in pregnant women with a leptin level higher than 40 ng/ml.

Conclusions: Leptin determination could be useful in predicting the need for insulin therapy in patients with GD. However, further studies with a larger number of patients are required to confirm our findings.

Key words: Leptin. Insulin therapy. Gestational diabetes mellitus.

Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. España.

Introducción: Se han publicado varios trabajos que implican a la leptina (L) en diversos procesos metabólicos, entre ellos la diabetes gestacional (DG) y otras alteraciones del embarazo como la preeclampsia y el retraso de crecimiento intrauterino. Se ha observado que la concentración de L en plasma es superior en gestantes diabéticas que en gestantes sanas.

Objetivo: Valorar si la L puede ser un parámetro bioquímico de utilidad en pacientes con DG a la hora de predecir la necesidad de tratamiento insulínico desde el momento mismo del diagnóstico.

Pacientes y método: Cincuenta mujeres diagnosticadas de DG entre las semanas 28 y 32 con: media \pm desviación estándar de edad, $34,4 \pm 4,5$ años; IMC, $25,4 \pm 2,14$, y L, $48,5 \pm 16$ ng/ml. Fueron separadas en 2 grupos: uno con criterios de insulinización, formado por 24 pacientes, y otro que no precisó insulina, formado por 26. Los criterios de inclusión fueron: presentar un IMC $> 22,5$ y < 27 , con determinación bioquímica entre las semanas 28 y 32.

Resultados: La L en plasma materno fue significativamente superior en el grupo que precisó insulina. No se apreciaron diferencias en la media de edad de las pacientes ni en su IMC. La *odds ratio* que predice la necesidad de insulina durante el embarazo fue de 6 en gestantes con L > 40 ng/ml.

Conclusiones: Con la cautela de precisar más estudios y con mayor número de pacientes, se puede indicar que la L es útil como parámetro bioquímico que nos ayude a predecir la necesidad de tratamiento insulínico en pacientes diagnosticadas de DG.

Palabras clave: Leptina. Insulinoterapia. Diabetes mellitus gestacional.

INTRODUCCIÓN

La leptina (L) es una hormona peptídica formada por 167 aminoácidos, de 16 kDa, que se transcribe a partir del gen *ob* localizado en el cromosoma 7q31.3. Se produce fundamentalmente en el tejido adiposo blanco y su principal función parece ser la regulación del peso corporal, por disminución de la ingesta alimenticia y aumento del metabolismo basal¹. El gen *ob* también se expresa en la placenta^{2,3}, la glándula mamaria⁴ y la adenohipófisis humanas⁵. La L posee un receptor del tipo de las citocinas, de estructura similar a la de la interleucina 6. Mediante estudios electrofisiológicos se ha demostrado que la L también tiene efectos inmediatos en las neuronas hipotalámicas^{6,7} y las células B del páncreas⁸⁻¹⁰. Este

Correspondencia: Dr. D. Álvarez Ballano.
Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Universitario Miguel Servet.
P.º Isabel la Católica, 1-3. 50009 Zaragoza. España.

Manuscrito recibido el 11-9-2005 y aceptado para su publicación el 13-4-2006.

efecto depende tanto de la activación del receptor como de la de los canales de potasio sensibles al adenotri-fosfato (KATP)¹⁰.

La regulación de la expresión de la proteína depende fundamentalmente de los depósitos grasos del organismo, de manera que los valores de L circulante son proporcionales a la cantidad de grasa corporal¹¹⁻¹³.

Se han valorado las interacciones entre la L y la insulina, por una parte debido a la coexistencia de estados de resistencia a insulina y a L en individuos obesos y, por otra, a la fuerte asociación entre obesidad y diabetes mellitus tipo 2 (DM2). La DM2 se caracteriza por un estado de resistencia a la insulina asociado con hiperglucemia, lo que ha permitido postular que la L es uno de los factores de la relación entre obesidad y resistencia a la insulina y entre obesidad y DM2^{14,15}. Se ha demostrado que en los adipocitos de rata, la L disminuye la unión de la insulina con sus receptores¹⁶. La L y la insulina se regulan mutuamente. Así, la L inhibe la producción de insulina en las células B del páncreas^{9,10,17}, mientras que la insulina estimula la producción de L en el tejido adiposo.

Durante el embarazo, la cantidad de L circulante materna aumenta progresivamente, alcanza un máximo durante el segundo trimestre y permanece elevada hasta el momento del parto¹⁸⁻²⁰. Este aumento en la producción de L también es independiente de la aparición de nuevos depósitos de grasa. La producción de L placentaria es mayor al inicio del embarazo y disminuye a medida que avanza. La cantidad de L en el segundo y el tercer trimestre del embarazo llega hasta el 150-200% de la encontrada durante el primer trimestre y en mujeres no gestantes^{2,21}. Este incremento se debe al aumento de la producción de L durante la gestación, por una lado la placenta (15%) y por otro el tejido adiposo (85%)²², estimulado por las hormonas placentarias. Existe una correlación entre estradiol, gonadotropina coriónica y L durante la gestación²³. La L está implicada en diversos procesos metabólicos, entre ellos la diabetes gestacional (DG) y otras alteraciones del embarazo como la preeclampsia y el retraso de crecimiento intrauterino, alterando el normal funcionamiento de la unidad madre-placenta-feto²⁴. La cantidad de L en plasma es significativamente mayor en gestantes diabéticas que en gestantes sanas^{25,26}.

El objetivo de nuestro trabajo es valorar si la L puede ser un parámetro bioquímico de utilidad en pacientes diagnosticadas de DG a la hora de predecir la necesidad de tratamiento insulínico desde el momento mismo del diagnóstico. También intentaremos determinar si la L puede influir en la resistencia a la insulina, la disfunción secretora de la célula B o ambos factores patogénicos de la DG.

PACIENTES Y MÉTODO

Estudiamos a 50 pacientes de raza caucásica con DG y las siguientes características generales: media \pm desviación estándar de edad, 34,4 \pm 4,5 años; IMC, 25,4 \pm 2,1, y L,

40,7 \pm 18,5 ng/ml. Fueron separadas en 2 grupos: uno con criterios de tratamiento insulínico en el transcurso de su gestación, formado por 24 pacientes, y otro que no precisó insulina, formado por 26. La tasa general de insulinización fue del 48%.

Se incluyó en el estudio a pacientes de raza caucásica diagnosticadas de DG entre las semanas 28 y 32, según los criterios actuales de Carpenter et al²⁷, que presentaban un IMC > 22,5 y < 27,5 y a las que se había realizado determinación bioquímica de parámetros analíticos entre las semanas 28 y 32 de gestación. El diagnóstico se realizó en la semana 29,9 \pm 1,8.

Los criterios de tratamiento insulínico fueron tomados de las directrices propuestas por el IV Workshop Internacional sobre DG²⁸: si tras instaurar medidas dietéticas persistían glucemias capilares en ayunas y antes de las comidas > 95 mg/dl y 1 h después de las comidas > 140 mg/dl o 2 h después > 120 mg/dl (tratamiento insulínico si 2 o más puntos están elevados en 2 semanas). En nuestro caso valoramos la glucemia capilar posprandial a las 2 h. El tratamiento dietético inicial consistió en una dieta adecuada al peso de la paciente y necesidades de la gestación de entre 25 y 32 kcal/kg.

La determinación bioquímica se realizó en el caso de la L mediante un análisis inmunoradiométrico (IRMA; Diagnostics Systems Laboratories, Inc; Webster, TX, Estados Unidos).

Se trata de un estudio analítico de casos y controles en el que se ha estudiado de forma retrospectiva los datos de pacientes con DG, en función de si presentaron criterios de tratamiento insulínico o no en el transcurso de su gestación y los valores de L, glucosa basal, glucosa en la primera, segunda y tercera hora del test de sobrecarga oral con 100 g (TSOG-100), insulina, péptido C, índice de resistencia a la insulina por modelo de cálculo homeostático (HOMA RI) y glucohemoglobina (HbA_{1c}). Todo ello entre las semanas 28 y 32 (ninguna paciente estaba en tratamiento insulínico al determinarse la L y demás parámetros bioquímicos empleados).

Análisis estadístico

Se ha utilizado la prueba de la t de Student como método estadístico al tratarse de combinar una variable dicotómica (insulina sí o no) con una variable cuantitativa continua con distribución normal (IMC, edad media, HbA_{1c}, glucosa basal, glucosa tras la primera, la segunda y la tercera hora del TSO-100) y la U de Mann-Whitney para analizar la L, la insulina, el péptido C y el HOMA RI al tratarse de variables cuantitativas con distribución no normal frente a una dicotómica. Se utilizó el programa estadístico SPSS, versión 11.5.

En los estudios de casos y controles no se puede obtener información sobre la incidencia de la enfermedad, ya que partimos de una población seleccionada. Tampoco obtenemos información sobre la prevalencia, ya que el número de pacientes depende de los elegidos. Debido a ello, la fuerza de correlación no se puede calcular directamente, sino de forma indirecta mediante la *odds ratio*.

RESULTADOS

Grupo con criterios de tratamiento insulínico, 24 pacientes con: L en plasma, 46,6 \pm 20,8 ng/ml; glucosa basal, 99,5 \pm 17,2 mg/dl; glucosa en la primera hora

del TSO-100, $214,9 \pm 29,5$ mg/dl; HbA_{1c} , $5,2\% \pm 0,63\%$.

Grupo sin criterios de tratamiento insulínico, 26 pacientes con: L en plasma, $34,3 \pm 13,4$ ng/ml; glucosa basal, $87,4 \pm 12,8$ mg/dl; glucosa en la primera hora del TSO-100, $191,6 \pm 39,7$ mg/dl; HbA_{1c} , $4,91\% \pm 0,44\%$.

Los valores de L en plasma materno fueron superiores en el grupo que precisó insulina; 46,6 frente a 34,3 ($p < 0,05$). No se apreciaron diferencias significativas en la edad media de las pacientes ni en su IMC. Recordemos que uno de los criterios de inclusión de la muestra era presentar $IMC > 22,5$ y $< 27,5$ para evitar sesgos por dicha variable, dado que la L está íntimamente relacionada con el IMC. Tampoco se observaron diferencias en el grado de resistencia insulínica estimada por el HOMA-RI, pero sí en la glucemia basal en el TSO-100 y en la HbA_{1c} . En la tabla 1 se comparan todos los resultados entre ambos grupos.

La *odds ratio* de precisar insulina durante la gestación fue 6 veces mayor en gestantes con $L > 40$. La *odds ratio* en pacientes con $IMC > 25$ fue de 6,6 y de 7,5 en pacientes con glucemia basal en el TSO-100 > 95 mg/dl.

DISCUSIÓN

En nuestro grupo de pacientes diagnosticadas de DG, homogéneo en cuanto a IMC y edad, los valores de L en plasma materno han resultado ser superiores, con significación estadística, en las gestantes que precisaron tratamiento insulínico para alcanzar un óptimo control metabólico. Dichos resultados no sólo irían en la línea de implicar a la L en la fisiopatología de la DG tal y como se refleja en varios estudios realizados

en los últimos años^{25,26,29}, sino que indican, con la lógica cautela de precisarse más estudios con mayor número de pacientes y análisis estadístico multivariable, la utilidad de la L como parámetro bioquímico que nos ayude a predecir la necesidad de tratamiento insulínico en pacientes diagnosticadas de DG.

Resulta fundamental seleccionar para el estudio a pacientes con similar IMC para evitar sesgos, ya que la L presenta una correlación positiva con la cantidad de tejido graso corporal¹¹⁻¹³.

Hasta la fecha se sabía que la cantidad de L materna aumentaba de forma fisiológica durante el embarazo¹⁸⁻²⁰ y que en las mujeres con DG era significativamente mayor que en las gestantes sanas^{25,26}. Dentro de este grupo y a raíz de nuestros resultados, apreciamos una elevación en las pacientes que precisaron tratamiento insulínico también mayor que en las que se controlan únicamente con dieta. Es importante resaltar que en la actualidad no hay publicado ningún estudio que valore la utilidad de la L como predictora de tratamiento insulínico en DG ni en DM2.

Existen actualmente, en la literatura, dos posiciones al respecto de la implicación patogénica de la L en la DG: por un lado, el aumento de la resistencia a la insulina^{14,15,30,31} y, por otro, la disfunción secretora de la célula beta pancreática^{9,10,32-34}. En el análisis de nuestros resultados no se observan diferencias en el grado de resistencia a la insulina medido por el HOMA RI, posiblemente por tratarse de gestantes con similar IMC. Pero por el contrario, sí se apreciaron diferencias en la glucemia basal, tras 1 h de la TSO-100, a pesar de utilizar la glucemia capilar posprandial a las 2 h como criterio de tratamiento insulínico, y en la HbA_{1c} en presencia de valores de insulina y péptido C que no diferían entre los dos grupos. Es decir, las gestantes que iban a precisar insulina para alcanzar un correcto control metabólico y tenían la L más elevada presentaban cantidades de insulina y péptido C basales iguales a los del grupo control, pero con una glucemia basal y una HbA_{1c} significativamente mayores. Sería lógico pensar en un aumento de insulina para contrarrestar la elevación de la glucemia, situación que no se produce y apuntaría a un posible déficit relativo de dicha hormona secundario a disfunción secretora de la célula B, como señalan varios artículos científicos³²⁻³⁴.

Es conocida la implicación de la obesidad en la patogenia de la DG, fundamentalmente mediada por la resistencia a la insulina, que aumenta durante el embarazo por diferentes situaciones, como una elevación del lactógeno placentario, la progesterona, la prolactina, el cortisol, el estradiol, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) placentario y los ácidos grasos libres³⁵. Por este motivo, llega un momento en el que el páncreas no es capaz de secretar una cantidad suficiente de insulina para mantener la normoglucemia, situación patogénica equiparable a la presente en la DM2. Los pacientes obesos presentan valores de L considerablemente mayores al mantener dicha hormo-

TABLA 1. Valores de leptina y demás parámetros bioquímicos analizados en plasma materno entre las semanas 28 y 32, en pacientes con diabetes gestacional en función de si precisaron insulina o no

Variable	Insulina (n = 24)	Sin insulina (n = 26)	p
Edad (años)	$34,1 \pm 5,3$	$34,5 \pm 4,1$	NS
IMC	$25,9 \pm 2,2$	$24,8 \pm 2,1$	NS
Leptina (ng/ml)	$46,6 \pm 20,8$	$34,3 \pm 13,4$	$< 0,05$
Insulina (mU/ml)	$23,79 \pm 13,5$	$23,81 \pm 18,3$	NS
Péptido C (ng/ml)	$3,12 \pm 1,63$	$2,97 \pm 1,87$	NS
HbA_{1c} (%)	$5,2 \pm 0,63$	$4,91 \pm 0,44$	$< 0,05$
Glucosa basal (mg/dl)	$99,5 \pm 17,2$	$87,4 \pm 12,8$	$< 0,01$
Glucosa 1 h TSO-100 (mg/dl)	$214,9 \pm 29,5$	$191,6 \pm 39,7$	$< 0,03$
Glucosa 2 h TSO-100 (mg/dl)	$192,8 \pm 46,4$	$180,4 \pm 21,5$	NS
Glucosa 3 h TSO-100 (mg/dl)	$165,8 \pm 46,7$	$146 \pm 37,9$	NS
HOMA RI	$6,20 \pm 4,55$	$5,53 \pm 5,29$	NS

HbA_{1c} : glucosilhemoglobina; HOMA RI: modelo de cálculo homeostático de la resistencia a la insulina; IMC: índice de masa corporal; NS: diferencias no significativas; TSO-100: test de sobrecarga oral de glucosa con 100 g. Los datos expresan la media \pm desviación estándar.

na una correlación positiva con la cantidad de tejido graso corporal. Por otro lado, se han publicado varios estudios que relacionan la L con la fisiopatología de la DG independientemente del IMC²⁹. Parece, por lo tanto, que la obesidad pueda ejercer dos mecanismos en principio independientes: uno en relación con la resistencia insulínica, íntimamente ligado a la cantidad de tejido graso corporal, y el otro mediado por la leptina independientemente del IMC, como se ha mencionado anteriormente. De ahí el elevado porcentaje de sobrepeso y obesidad en las pacientes diagnosticadas de DG.

Al analizar el TSO-100, observamos diferencias significativas en la glucemia tras la primera hora en las pacientes que van a precisar insulina y presentaban unos valores más elevados de L, pero no así tras la segunda y la tercera horas. Todo ello sin diferencias en el grado de resistencia insulínica ni en el IMC. Este hallazgo podría orientar a una disminución del pico inicial de secreción pancreática tras la ingesta. Sería interesante realizar más estudios al respecto intentando relacionar la L en plasma materno con la disfunción de la célula B.

En mujeres diagnosticadas de DG con IMC de $25,4 \pm 2,14$, y una edad de $34,4 \pm 4,5$, la *odds ratio* que predice la necesidad de insulina es de 6 en pacientes con cifras > 40 ng/ml de L plasmática.

CONCLUSIONES

Con la necesidad de realizar más estudios al respecto, se puede señalar que la L es útil como parámetro bioquímico que nos ayude a predecir la conveniencia de tratamiento insulínico en pacientes con DG desde el momento mismo de su diagnóstico, para poder identificar a grupos de pacientes que requieran un control más estrecho por parte de su endocrinólogo, con revisiones menos espaciadas, y si es posible, semanalmente, para así intentar minimizar la probabilidad de complicaciones materno-fetales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Auwerx J, Staels B. Leptin. *Lancet*. 1998;351:737-42.
2. Maasuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta derived hormone in humans. *Nat Med*. 1997;3:1029-33.
3. Lepercq J, Cauzac M, Lahlou N, Timsit J, Girard J, Auwerx J, et al. Overexpression of placental leptin in diabetic pregnancy. *Diabetes*. 1998;47:847-50.
4. Smith-Kirwin SM, O'Connor DM, De Johnston J, Lancey ED, Hassink SG, Funanage VL. Leptin expression in human mammary epithelial cells and breast milk. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83:1810-3.
5. Sinha MK. Human leptin: the hormone of adipose tissue. *Eur J Endocrinol*. 1997;136:461-4.
6. Myers MG Jr, White MF. The molecular basis of insulin action. En: DeGroot LJ, Jameson JL, editores. *Endocrinology*. 4.ª ed. Philadelphia: WB Saunders; 2002. p. 712-27.
7. Spanswick D, Smith MA, Groppi V, Logan SD, Ashford ML. Leptin inhibits hypothalamic neurons by activation of ATP-sensitive potassium channels. *Nature*. 1997;390:521-5.
8. Harvey J, McKenna F, Herson PS, Spanswick D, Ashford ML. Leptin activates ATP-sensitive potassium channels in the rat insulin-secreting line, CRI-G1. *J Physiol*. 1997;504:527-35.
9. Ahren B, Havel PJ. Leptin inhibits insulin secretion induced by cellular cAMP in a pancreatic B cell line (INS-1 cells). *Am J Physiol*. 1999;277(4 Pt 2):R959-66.
10. Seufert J, Kieffer TJ, Habener JF. Leptin suppression of insulin secretion by the activation of ATP-sensitive K⁺ channels in pancreatic beta-cells. *Diabetes*. 1997;46:1087-93.
11. Russell CD, Ricci MR, Brolin RE, Magill E, Fried SK. Regulation of the leptin content of obese human adipose tissue. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001;280:E399-404.
12. Minocci A, Savia G, Lucantoni R, Berselli ME, Tagliaferri M, Calo G, et al. Leptin plasma concentrations are dependent on body fat distribution in obese patients. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2000;24:1139-44.
13. Shimizu H, Shimomura Y, Hayashi R, Ohtani K, Sato N, Futawata T, et al. Serum leptin concentration is associated with total body fat mass, but not abdominal fat distribution. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1997;21:536-41.
14. Ceddia RB, Heikki AK, Zierath JR, Sweeney G. Analysis of paradoxical observations on the association between leptin and insulin resistance. *FASEB J*. 2002;16:1163-76.
15. Fischer S, Hanefeld M, Haffner SM, Fusch C, Schwanebeck U, Kohler C, et al. Insulin-resistant patients with type 2 diabetes mellitus have higher serum leptin levels independently of body fat mass. *Acta Diabetol*. 2002;39:105-10.
16. Walder K, Filippis A, Clark S, Zimmer P, Collier GR. Leptin inhibits insulin binding in isolated rat adipocytes. *J Endocrinol*. 1997;155:R5-7.
17. Seufert J. Leptin effects on pancreatic beta-cell gene expression and function. *Diabetes*. 2004;53:152-8.
18. Lage M, Garcia-Mayor RV, Tome MA, Cordido F, Valle-Inclan F, Considine RV, et al. Serum leptin in women throughout pregnancy and the postpartum period and in women suffering spontaneous abortion. *Clin Endocrinol*. 1999;50:211-6.
19. Hardie L, Trayhurn P, Abramovich D, Fowler P. Circulating leptin in women: a longitudinal study in the menstrual cycle and during pregnancy. *Clin Endocrinol*. 1997;47:101-6.
20. Henson MC, Castracane VD. Leptin in pregnancy. *Biol Reprod*. 2000;63:1219-28.
21. Butte NF, Hopkinson JM, Ellis KJ, Wong WW, Smith EO. Changes in fat-free mass and fat mass in postpartum women: a comparison of body composition models. *Intl J Obes Relat Metab Disorders*. 1997;21:874-80.
22. Linnemann K, Malek A, Sager R, Blum WF, Schneider H, Fusch C. Leptin: Roles and regulation in primate pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85:4298-301.
23. Hardie L, Trayhurn P, Abramovich D, Fowler P. Circulating leptin in women: a longitudinal study in the menstrual cycle and during pregnancy. *Clin Endocrinol*. 1997;47:101-6.
24. Linnemann K, Malek A, Schneider H, Fusch C. Physiological and pathological regulation of feto/placental/maternal leptin expression. *Biochem Soc Transactions*. 2001;29 part 2.
25. Lea RG, Howe D, Hannah LT, Bonneau O, Hunter L, Hoggard N. Placental leptin in normal, diabetic and fetal growth-retarded pregnancies. *Mol Hum Reprod*. 2000;6:763-9.
26. Kautzky-Willer A, Pacini G, Tura A, Bieglmayer C, Schneider B, Ludvik B, et al. Increased plasma leptin in gestational diabetes. *Diabetologia*. 2001;44:164-72.
27. Carpenter MW, Coustan DR. Criteria for screening tests for gestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol*. 1982;144:768-73.
28. Metzger BE, Coustan DR, the Organizing Committee. Summary and recommendations of the Fourth International Works-

- hop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 1998;21 Suppl 1:B161-7.
29. Qiu C, Williams MA, Vadachkoria S, Frederick IO, Luthy DA. Increased maternal plasma leptin in early pregnancy and risk of gestational diabetes mellitus. *Obstet Gynecol*. 2004;103:519-25.
30. Zimmet P, Hodge A, Nicolson M, Staten M, De Courten M, Moore J, et al. Serum leptin concentration, obesity, and insulin resistance in Western Samoans: cross sectional study. *BMJ*. 1996;313:965-9.
31. Huang KC, Lin RC, Kormas N, Lee LT, Chen CY, Gill TP, et al. Plasma leptin is associated with insulin resistance independent of age, body mass index, fat mass, lipids, and pubertal development in nondiabetic adolescents. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004;28:470-5.
32. Zhao AZ, Bornfeldt KE, Beavo JA. Leptin inhibits insulin secretion by activation of phosphodiesterase 3B. *J Clin Invest*. 1998;102:869-73.
33. Seufert J, Kieffer TJ, Leech CA, Holz GG, Moritz W, Ricordi C, et al. Leptin suppression of insulin secretion and gene expression in human pancreatic islets: implications for the development of adipogenic diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84:670-6.
34. Poitout V, Rouault C, Guerre-Millo M, Briaud I, Reach G. Inhibition of insulin secretion by leptin in normal rodent islets of Langerhans. *Endocrinology*. 1998;139:822-6.
35. Di Cianni G, Miccoli R, Volpe L, Lencionci C, Del Prato S. Intermediate metabolism in normal pregnancy and in gestational diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 2003;19:259-70.