

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA

ESTUDO DA CORRELAÇÃO ENTRE O ÍNDICE PONDERAL E A
CONCENTRAÇÃO DE LEPTINA MATERNA E FETAL EM GESTANTES
DIABÉTICAS E NÃO DIABÉTICAS

Sivana Santos Assreuy Diniz

Belo Horizonte
2004

Sivana Santos Assreuy Diniz

ESTUDO DA CORRELAÇÃO ENTRE O ÍNDICE PONDERAL E A
CONCENTRAÇÃO DE LEPTINA MATERNA E FETAL EM GESTANTES
DIABÉTICAS E NÃO DIABÉTICAS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor.

Área de concentração: Saúde da Mulher

Orientadora: Profa Dra. Alamanda Kfoury Pereira

UFMG
Belo Horizonte
2004

RESUMO

OBJETIVOS: verificar a existência de correlação entre o índice ponderal neonatal e a concentração de leptina materna e fetal em gestantes diabéticas e não diabéticas; verificar se no grupo de pacientes diabéticas, o uso de insulina interfere na correlação entre o índice ponderal neonatal e a concentração de leptina materna e fetal. **PACIENTES E MÉTODOS:** no período de março de 2001 a fevereiro de 2003, realizou-se estudo transversal em que 62 gestações foram avaliadas, sendo 30 pacientes saudáveis (grupo controle) e 32 diabéticas (grupo estudo); este foi posteriormente dividido entre usuárias (17 pacientes) e não usuárias de insulina (15 pacientes). No momento do parto, foram coletadas amostras de sangue materno e do cordão umbilical para posterior determinação da concentração sérica de leptina materna, fetal arterial e fetal venosa, através de radioimunoensaio convencional (RIA). Foi calculada a diferença entre as dosagens séricas de leptina obtidas no sangue de cordão (Δ art-ven). O índice ponderal (IP) foi obtido dividindo-se o peso do recém-nascido (em gramas) pela estatura (em cm) ao cubo e multiplicado por 100. Utilizou-se a correlação de Pearson para a avaliação da existência de correlação entre a concentração de leptina e o índice ponderal. Todos os resultados foram considerados significativos para uma probabilidade de significância inferior a 5% ($p < 0,05$), apresentando, portanto, pelo menos 95% de confiança nas conclusões apresentadas. **RESULTADOS:** Foi constatada correlação significativa positiva entre IP e concentração de leptina no sangue de cordão, tanto arterial ($p=0,048$) quanto venoso ($p=0,020$) no grupo estudo. Observou-se ainda tendência a correlação positiva entre IP e concentração de leptina materna neste grupo ($p=0,07$). Quando avaliados os subgrupos diabéticas usuárias ou não de insulina, a correlação entre o IP e a concentração de leptina de sangue de cordão não se manteve, apresentando apenas tendência a esta correlação entre as usuárias de insulina (arterial $p=0,077$ e venosa $p=0,078$). Neste mesmo grupo foi constatada correlação significativa positiva entre a dosagem de leptina materna e IP ($p=0,008$). **CONCLUSÕES:** Há correlação positiva entre o IP neonatal e concentração de leptina materna em gestantes diabéticas usuárias de insulina; há correlação positiva entre o índice ponderal neonatal e a concentração de leptina fetal, arterial e venosa, em gestantes diabéticas e a necessidade do uso de insulina pode ter interferido nesta correlação.

Palavras-chave: leptina, índice ponderal neonatal, diabetes.

SUMMARY

OBJECTIVE: verify correlation existence between neonatal ponderal index (IP) and leptin concentration, maternal and fetal, in pregnant healthy and diabetics; verify if in the patients' diabetic group, the insulin use interferes in the correlation between IP and leptin concentration, maternal and fetal. **SUTDY DESIGN:** this is a cross-sectional study carried out from March 2001 to February 2003, in which 62 gestations were evaluated, being 30 healthy patients (control group) and 32 diabetic (study group), subdivided in users (17 patients) and not insulin users (15 patients). Were collected samples of maternal blood and of the umbilical cord blood at delivery, for posterior determination of leptin concentrations in maternal and fetal, arterial and venous, through conventional enzymatic radioimunnoassay (RIA). The IP was obtained dividing the weight of the newborn (grams) by the stature (cm) to the cube and multiplied by 100. It used Pearson's Correlation for evaluation the correlation existence between leptin concentration and IP. All the results were considered significant for a probability lower than 5% ($p < 0,05$), confidence interval at least 95%, for the conclusions. **RESULTS:** It was verified positive significant correlation between IP and leptin concentration in the cord blood, arterial ($p=0,048$) and venous ($p=0,020$) in the group study. It observed a tendency to positive correlation between IP and maternal leptin concentration in this group ($p=0,07$). When evaluated the diabetic subgroups users or not of insulin, correlation between IP and cord blood leptin concentration did not keep, just presenting tendency to this correlation among insulin users (arterial $p=0,077$ and veined $p=0,078$). In this same group was verified positive significant correlation between maternal leptin concentrations and IP ($p=0,008$). **CONCLUSIONS:** There is positive correlation between IP and maternal leptin concentration in insulin diabetic pregnant users; there is positive correlation between IP and fetal leptin concentration, arterial and venous, in pregnant diabetics. The need to insulin use could have interfered in this correlation.

Key words: leptin, neonatal ponderal index, diabetes.

Dedico este trabalho aos meus filhos

Artur e Bruna

Todo trabalho é composto de pequenos fragmentos que isolados nada representam. Agradecer a todos aqueles que participaram da construção deste estudo parece impossível, pois ele é resultado de uma longa trajetória, iniciada na graduação.

Agradeço aos integrantes do CEMEFE, responsáveis pela minha formação, pela oportunidade, pelo apoio e, principalmente, pela confiança.

Aos pós-graduandos, residentes e plantonistas do Serviço de Obstetrícia do Hospital das Clínicas da UFMG, pelo auxílio na coleta e processamento do material empregado neste estudo.

Aos colegas de trabalho, pela cooperação constante.

Aos amigos e familiares pelo incentivo e compreensão nos momentos de ausência dedicados a este trabalho.

*“Não se aprende, senhor, na fantasia,
sonhando, imaginando ou estudando,
senão vendo, tratando e pelejando”*

Luiz de Camões

LISTA DE ABREVIATURAS

CEMEFE	Centro de Medicina Fetal
CIR	Crescimento intra-uterino restrito
Δ art-ven	Diferença entre a concentração fetal arterial e venosa
Δ IMC	Diferença entre o IMC inicial e o final
dl	Decilitro
DM1	Diabetes tipo 1
DM2	Diabetes tipo 2
DMG	Diabetes gestacional
DP	Desvio padrão
g	Grama
GIG	Grande para a idade gestacional
hCG	Gonadotrofina coriônica humana
hPL	Hormônio lactogênio placentário
IG	Idade gestacional
IGF	Fator de crescimento insulina-símile
IL	Interleucina
IMC	Índice de massa corporal
IP	Índice ponderal
kb	Kilobase
mg	Miligramma
ml	Mililitro
μ l	Microlitro
ng	Nanograma
pg	Picograma
RIA	Radioimunoensaio
RN	Recém-nascido
RNA _m	RNA mensageiro
rpm	Rotações por minuto
SAR	Síndrome de angústia respiratória
SNC	Sistema nervoso central
TNF	Fator de necrose tumoral
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - Caracterização das pacientes quanto ao sexo do recém-nascido nos grupos estudo e controle	54
GRÁFICO 2 - Avaliação da relação entre o índice ponderal e a concentração de leptina fetal arterial no grupo de diabéticas	57
GRÁFICO 3 - Avaliação da relação entre o índice ponderal e a concentração de leptina fetal venosa no grupo de diabéticas	57
GRÁFICO 4 - Avaliação da relação entre o índice ponderal e a concentração de leptina materna no grupo de diabéticas em uso de insulina	59

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Análise descritiva das pacientes quanto à idade, número de gestações e número de partos, nos grupos estudo e controle	52
TABELA 2 – Análise descritiva das pacientes quanto à estatura, peso e IMC materno, nos grupos estudo e controle	53
TABELA 3 - Análise descritiva das pacientes quanto à idade gestacional nos grupos estudo e controle	54
TABELA 4 - Análise descritiva das pacientes quanto ao peso, estatura e índice ponderal do recém nascido nos grupos estudo e controle	55
TABELA 5 - Análise descritiva das pacientes quanto a concentração de leptina nos grupos estudo e controle	56
TABELA 6 - Avaliação da relação entre índice ponderal e concentração de leptina nos grupos estudo e controle	58
TABELA 7 - Avaliação da relação entre índice ponderal e concentração de leptina no grupo de diabéticas, considerando-se o uso de insulina	58
TABELA 8 - Análise descritiva das pacientes quanto à idade, número de gestações e número de partos considerando-se o grupo	96
TABELA 9 - Análise descritiva das pacientes quanto à estatura, peso e IMC materno considerando-se o grupo	97
TABELA 10 - Análise descritiva das pacientes quanto à idade gestacional considerando-se o grupo	98
TABELA 11 - Caracterização dos pacientes quanto a concentração de leptina considerando-se o grupo	99

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 Diabetes.....	14
2.1.1 Classificação.....	14
2.1.2 Fisiopatologia.....	15
2.1.2.1 Diabetes tipo 1.....	15
2.1.2.2 Diabetes tipo 2.....	15
2.1.2.3 Diabetes gestacional.....	16
2.1.3 Metabolismo materno-fetal.....	17
2.1.4 Morbimortalidade perinatal.....	18
2.1.4.1Crescimento fetal excessivo.....	19
2.2 Leptina.....	23
2.2.1 Histórico.....	23
2.2.2 Fisiologia.....	23
2.2.3 Regulação.....	24
2.2.4 Funções.....	25
2.2.5 Leptina materna.....	26
2.2.5.1 Na gestação normal.....	26
2.2.5.2 Na gestação patológica.....	29
2.2.5.3 Na lactação.....	31
2.2.6 Leptina fetal e neonatal.....	32
2.2.7 Leptina placentária.....	35
2.3 Leptina no diabetes.....	40
3 OBJETIVOS.....	45
4 PACIENTES E MÉTODOS.....	46
4.1 Pacientes.....	46
4.1.1 Grupo controle.....	46
4.1.2 Grupo estudo.....	46

4.2 Métodos.....	47
4.2.1 Dosagem da leptina materna e fetal.....	47
4.2.1.1 Coleta.....	47
4.2.1.2 Processamento.....	48
4.2.1.3 Armazenamento.....	48
4.2.1.4 Análise laboratorial.....	48
4.2.2 Cálculo do índice ponderal.....	48
4.2.3 Análise estatística.....	49
5 RESULTADOS.....	51
6 COMENTÁRIOS.....	60
7 CONCLUSÕES.....	68
8 REFERÊNCIAS.....	69
9 ANEXOS.....	92

1 INTRODUÇÃO

O CEMEFE constitui unidade de referência e excelência em pesquisa científica. Assisti a sua fundação quando ainda era acadêmica e monitora do então, Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da UFMG. No ano seguinte tornei-me residente no Hospital das Clínicas e passei a conviver de perto com seus integrantes, tendo a oportunidade e satisfação de presenciar seu crescimento e partilhar de sua amizade. No transcorrer destes anos as linhas de pesquisa desenvolvidas por esse grupo vêm sendo diversificadas.

Às condições as quais o conceito é submetido durante a vida intra-uterina determinam, em grande parte, o seu desenvolvimento após nascimento. Complexas interações entre a mãe, o feto e a placenta são necessárias para manutenção da gestação. Desequilíbrios nessa relação podem ocasionar transtornos ao binômio materno-fetal. Novas linhas de pesquisa têm sido propostas no CEMEFE para melhor entendimento da fisiologia fetal.

A leptina tem sido estudada como um possível marcador de massa adiposa e fator de crescimento fetal. Trata-se de hormônio peptídico recém descoberto, associado à obesidade e à síndrome de resistência à insulina. Em 2001 foi iniciada no CEMEFE uma linha de pesquisa relacionada à leptina. O primeiro trabalho realizado por CASTRO (2002) avaliou gestações normais. Prosseguindo nessa linha, o presente estudo analisa a seu comportamento em gestantes diabéticas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Diabetes

A taxa de diabetes aumenta progressivamente com a idade. Estudos recentes demonstram que a prevalência do diabetes entre mulheres em idade fértil vem aumentando (HARRIS et al., 1998). A contínua imigração entre populações com alta taxa de diabetes tipo 2, a epidemia virtual de obesidade na infância, as mudanças nos hábitos alimentares e no estilo de vida ocasionam elevação aguda na incidência de diabetes entre crianças e adolescentes, determinando profundo impacto no cuidado pediátrico e obstétrico. Dessa forma, prevê-se a elevação na porcentagem de pacientes portadoras de diabetes que se tornarão grávidas (*CENTERS FOR DISEASES CONTROL AND PREVENTION*, 1998).

A associação entre diabetes e gravidez representa risco para o binômio materno-fetal. Os avanços na assistência à gestação diabética, promovendo rigoroso controle metabólico, vigilância do crescimento e do bem estar fetal, diminuíram a taxa de perda perinatal, aproximando-se daquelas existentes na população em geral. Entretanto, outros problemas ainda persistem constituindo risco ao bem estar do conceito. As anomalias congênitas, muitas das quais debilitantes ou que ameaçam a vida, mantêm-se três a quatro vezes mais freqüentes entre as gestações diabéticas, quando comparadas às não diabéticas (McELVY et al., 2000, WYLIE et al., 2000). A macrosomia e o tocotraumatismo são 10 vezes mais freqüentes nas gestações complicadas pelo diabetes e estudos recentes indicam que a magnitude desses riscos está relacionada ao grau de hiperglicemia materna (RUDGE et al., 2000; KJOS et al., 2001).

A morbimortalidade materna, fetal e neonatal na gestação diabética pode ser, senão evitada, bastante reduzida com a implementação de orientações e cuidados meticulosos pré-concepcionais, durante o pré-natal e no parto (MOORE, 2003).

2.1.1 Classificação

O *NATIONAL DIABETES DATA GROUP OF THE NATIONAL INSTITUTES OF*

HEALTH (1979) desenvolveu um esquema de classificação que tem sido adotado desde então pela *AMERICAN DIABETES ASSOCIATION* e pela maioria dos serviços. Sua principal vantagem é categorizar o paciente com base na causa; não na duração e no tratamento da doença como em classificações anteriores. Assim, termos como diabetes juvenil, insulino-dependente e não insulino-dependente foram substituídos.

Com base na etiopatologia da hiperglicemia, o diabetes é assim classificado: tipo 1, insulino-deficiente (DM1); tipo 2, insulino-resistente (DM2) e diabetes gestacional (DMG).

2.1.2 FISIOPATOLOGIA

2.1.2.1 Diabetes tipo 1

Trata-se de doença crônica, auto-imune, resultante de interações complexas entre carga genética e fatores ambientais. Sua história natural pode ser dividida em três estágios: agressão às células β -pancreáticas, pré-diabetes e diabetes. No primeiro estágio, a lesão celular é mediada por atividade auto-imune celular e humoral. A progressiva destruição das células das ilhotas leva a perda da primeira fase de resposta da insulina às alterações de glicemia (HOLLINGSWORTH, 1983). Finalmente, a produção inadequada de insulina pelas células pancreáticas provoca consequências metabólicas graves. As pacientes têm diagnóstico na infância ou na adolescência durante episódio de hiperglicemia, cetoacidose e desidratação (ATIKINSON & MACLAREN, 1994).

2.1.2.2 Diabetes tipo 2

A doença resulta da progressiva resistência tecidual à insulina, associada à hiperglicemia e hiperlipidemia mediadas pela obesidade e estilo de vida sedentário. Não ocorre destruição das células β -pancreáticas. A cetoacidose nesse grupo de pacientes é rara, ocorrendo em casos de maior gravidade da doença. Sua história natural compreende cinco estágios: resistência à insulina, glicotoxicidade, lipotoxicidade, intolerância a glicose e diabetes. No primeiro estágio, fatores que

promovem resistência à insulina nos músculos e tecido adiposo (obesidade, sedentarismo, história familiar, genética e gravidez) levam a redução do aporte tecidual de glicose causando hiperglicemia assintomática. Essa hiperglicemia inibe diretamente a entrada de glicose nas células-alvo, agindo no sistema de transporte de glicose GLUT4 e induz a resposta inadequada da insulina com subsequente elevação da glicemia matinal (TURPEINEM et al., 1997). Esses eventos promovem desequilíbrio na secreção pulsátil da insulina, contribuindo ainda mais para o aumento da resistência a esse hormônio. Mais tarde, desenvolver-se-ão outras anormalidades na secreção de insulina, coincidindo com a perda do reconhecimento da mesma pelas células β -pancreáticas, resultando em hiperglicemia pós-prandial. O estado de resistência à insulina leva a lipólise nos órgãos de depósito, elevando o nível de ácidos graxos livres. Estes, por sua vez, inibem a liberação de insulina pelo pâncreas agravando a resistência tissular à insulina, principalmente nos músculos e no fígado. A lipotoxicidade é responsável por danos oxidativos a órgãos vitais, como coração e rins, mesmo na presença de euglicemia, nos estágios pré-clínicos do DM2 (HOLLINGSWORTH, 1983). O estágio de tolerância alterada a glicose precede a doença e, por definição, já existe hiperglicemia de jejum (entre 110 e 126 mg/dl). Glicotoxicidade e lipotoxicidade estão em evolução, promovendo lesão tecidual progressiva. No último estágio, com a doença já instalada, além do jejum alterado (> 126 mg/dl), a glicemia pós-prandial encontra-se elevada, já preenchendo os critérios diagnósticos da *AMERICAN DIABETES ASSOCIATION* (MOORE, 2003).

2.1.2.3 Diabetes gestacional

É definida como intolerância a glicose que se inicia ou é reconhecida pela primeira vez durante a gestação (*AMERICAN DIABETES ASSOCIATION*, 2002). Geralmente, a DMG origina-se da resistência materna à insulina, estado semelhante ao que ocorre na DM2. Muitos casos de DMG são na verdade pacientes em fase pré-clínica de DM2 em que o estresse hormonal imposto pela gestação faz manifestar a doença. Sua prevalência varia de 1 a 14%, de acordo com a população avaliada (ROTH et al., 1996). Seu diagnóstico é baseado em um teste oral de tolerância à glicose positivo, sendo recomendado o uso dos critérios propostos por CARPENTER & COUSTAN (1982) nas diretrizes emitidas pela *FOURTH INTERNATIONAL WORKSHOP CONFERENCE ON GESTATIONAL DIABETES MELLITUS* (METZER

& COUSTAN, 1998), *AMERICAN DIABETES ASSOCIATION* (2002) e *AMERICAN COLLEGE OF OBSTETRICIANS AND GYNECOLOGISTS* (2001).

2.1.3 Metabolismo materno-fetal

Durante a gestação, uma série de complexas combinações e interações metabólicas ocorre no organismo materno após cada alimentação. O aumento na concentração da glicemia, quando nutrientes são absorvidos no intestino, promove a secreção secundária pelo pâncreas de insulina, glucagon e somatostatina, além de liberação de catecolaminas adrenais para assegurar suprimento de glicose adequado, porém não excessivo, para mãe e feto (MOORE, 2003).

O conceito retira continuamente glicose da circulação materna, através da placenta, mesmo nos períodos de jejum, levando a uma propensão a hipoglicemia entre as refeições e à noite. A hipoglicemia interprandial torna-se mais acentuada com o progredir da gravidez, pois a demanda fetal por glicose também aumenta (HOLLINGSWORTH, 1983).

O nível dos esteróides placentários e hormônios peptídicos, considerados diabetogênicos, eleva-se linearmente através do segundo e terceiro trimestres da gestação resultando em aumento progressivo na resistência tecidual materna à ação da insulina (HARDIE, et al., 1997). Dessa forma, torna-se necessário aumento da sua produção pelo pâncreas, chegando a mais de duas vezes o valor pré-gestacional durante as refeições para manutenção dos valores normais da glicemia (HOLLINGSWORTH, 1983).

A falha em elevar adequadamente a produção pancreática de insulina provoca hiperglicemia materna e fetal. O grau de hiperglicemia e o horário em que ocorre são importantes fatores que contribuem para a morbidade das gestações complicadas pelo diabetes. Dessa forma, quando os níveis de glicemia pós-prandial maternos encontram-se elevados, a hiperglicemia fetal resultante é acompanhada de hiperinsulinemia fetal episódica (HOLLINGSWORTH, 1983). Esse evento, mesmo que dure somente entre uma e duas horas, acarreta dano ao crescimento e ao bem estar do conceito, promovendo armazenamento inadequado de nutrientes, com

conseqüente macrosomia fetal. Além disso, direciona o catabolismo do excesso de combustível, com gasto de energia e depleção das reservas fetais de oxigênio. A hipóxia fetal estimulada pelos episódios de hiperglicemia materna ocasiona a liberação de catecolaminas pela supra-renal. Estas, por sua vez, causam hipertensão, remodelação e hipertrofia cardíaca, além de elevar os níveis de eritropoetina, com conseqüente hiperplasia das células vermelhas e aumento do hematócrito fetal. O hematócrito elevado dificulta a circulação e é responsável pela hiperbilirrubinemia neonatal (EIDELMAN & SAMUELOFF, 2002).

2.1.4 Morbimortalidade perinatal

A mortalidade perinatal na gestação diabética diminuiu cerca de 30 vezes desde o descobrimento da insulina e da instituição de cuidados intensivos obstétricos e neonatais. A melhoria nas técnicas de manutenção da euglicemia materna tem permitido adiar o momento do parto, reduzindo, dessa forma, a ocorrência da síndrome de angústia respiratória (SAR) iatrogênica. Todavia, a taxa de mortalidade perinatal relatada para filhos de mulheres diabéticas mantém-se aproximadamente duas vezes superior àquela observada na população que não experimenta essa intercorrência. Atualmente, as malformações congênitas, SAR e a prematuridade extrema respondem pela maior parte das mortes perinatais entre as gestantes diabéticas (ROTH et al., 1996; MOORE, 2003).

A taxa de abortamento é mais elevada entre pacientes diabéticas que apresentam controle glicêmico inadequado (SUTHERLAND & PRITCHARD, 1986). PLATT et al. (2002) demonstraram que em populações onde o controle glicêmico é rigoroso, essas taxas são semelhantes às da população em geral.

A possibilidade de desenvolvimento de anomalia estrutural que ponha em risco a vida do recém-nascido (RN) constitui uma das maiores ameaças à prole das diabéticas. A maioria das lesões envolve o sistema nervoso central (SNC) e cardiovascular, podendo existir também no sistema geniturinário e nos membros. Sua incidência é cerca de quatro a oito vezes maior em fetos cujas mães são previamente diabéticas quando comparados aos filhos de mulheres normoglicêmicas, aos de mulheres que desenvolvem DMG após o primeiro trimestre

de gestação ou àqueles de homens diabéticos (REECE et al., 1998). Esses achados sugerem que a hiperglicemia no período da embriogênese é o principal determinante para a ocorrência dos defeitos congênitos (MILLER et al., 1981; LUCAS et al., 1989). O mecanismo pelo qual a hiperglicemia altera o desenvolvimento do embrião é multifatorial (ERIKSSON et al., 2000).

O tocotraumatismo é mais comum entre os fetos de diabéticas, especialmente os macrossômicos (GILBERT et al., 1999). A distócia de ombro é cerca de duas a quatro vezes mais freqüente em mulheres com diabetes, provavelmente devido ao padrão de deposição de gordura dos seus fetos, com alargamento do diâmetro da cintura escapular e da circunferência abdominal (McFARLAND et al., 1988).

Embora o peso fetal entre as gestantes diabéticas tenda para os limites superiores, crescimento intra-uterino restrito (CIR) pode ocorrer com relativa freqüência, especialmente entre aquelas com doença vascular subjacente. A concomitância de hipertensão arterial ou anomalias congênitas estruturais pode contribuir para essa intercorrência (REECE et al., 1998). Já a obesidade fetal é cerca de três vezes mais freqüente (COMBS et al., 1992) e associa-se a grande parte da morbidade do filho da mãe diabética (VAN ASSCHE et al., 2001). Independente do critério utilizado para definir macrossomia fetal, sua prevalência está aumentada na gestação complicada pelo diabetes (SACKS, 1993; LEPERCQ et al., 2001).

2.1.4.1 Crescimento fetal excessivo

A macrossomia fetal é uma condição heterogênea em termos de definição e fatores etiológicos (LEPERCQ et al., 2000). O índice ponderal descrito por MILLER e HASSANEIN (1971) tem sido proposto com a finalidade de descrever melhor os padrões de crescimento fetal, pois leva em conta o peso, a estatura e a idade gestacional. É relativamente livre de variações quanto ao sexo e a raça, sendo o seu cálculo de fácil execução (LEPERCQ et al., 1999).

A regulação do crescimento fetal é complexa e multifatorial e seu mecanismo é incompletamente compreendido. Uma interação de fatores endócrinos maternos,

placentários e fetais é provavelmente o que determina a cinética dos nutrientes e da proliferação e maturação das células fetais (CHRISTOU et al., 2001).

Em RN de gestações sem intercorrências a massa magra representa 86% do peso ao nascimento enquanto que a adiposa, 14% (CATALANO et al., 1992). A primeira relaciona-se a fatores genéticos, enquanto que a massa adiposa está relacionada ao ambiente intra-uterino (LEPERCQ et al., 2000).

Dentre os fatores que se associam à macrosomia, o diabetes é o melhor estudado (LEPERCQ et al., 2000). O período antenatal dos conceitos de mães diabéticas é singular: o crescimento do esqueleto mantém-se inalterado enquanto que o acúmulo de gordura, especialmente no terceiro trimestre, é excessivo e concentra-se principalmente no tronco. Os ombros são mais largos, assim como a circunferência das extremidades, apresentando razão cabeça/ombro diminuída e prega cutânea mais espessa (McFARLAND et al., 1998). A massa adiposa é mais importante em relação ao peso corporal total, sendo responsável por 25 a 30% deste (LAPILLONNE et al., 1997).

O processo de acúmulo excessivo de gordura pelo feto na segunda metade da gestação é reflexo do aporte aumentado de nutrientes da circulação materna para a unidade feto-placentária. PEDERSEN (1952) postulou que a hiperglicemia materna estimularia a hiperinsulinemia fetal. Esta, por sua vez, mediaría o uso desse substrato energético, acelerando o ganho de peso fetal.

A concentração elevada de glicose na circulação materna é um fator importante, porém não o único promotor da macrosomia fetal (JOVANOVIC-PETERSON, 1991). Os achados do projeto *DIABETES IN EARLY PREGNANCY* (1984) demonstram que o peso ao nascimento correlaciona-se melhor com o nível de glicemia pós-prandial materno no segundo e terceiro trimestres da gravidez e não com a glicemia média e de jejum. Mantida a glicemia duas horas pós-prandial em valores até 120 mg/dl, cerca de 20% dos RN apresentaram macrosomia ao nascimento. Quando os valores se elevam até 160 mg/dl, essa taxa alcança aproximadamente 35%.

O DM2 e a obesidade, freqüentemente, coexistem, logo, o efeito da massa adiposa materna no crescimento fetal não pode ser negligenciado (MICHLIN et al., 2000). Vários estudos sugerem que a obesidade materna antes da gravidez tenha efeito independente na ocorrência de macrosomia fetal. VOHR et al. (1995) analisaram vários fatores de risco para macrosomia neonatal em diabéticas comparadas a controles obesas e não obesas. O peso pré-gestacional e o ganho de peso na gravidez foram preditores significativos para o crescimento excessivo em filhos de diabéticas e não diabéticas. KUMARI (2001) encontrou incidência de macrosomia triplicada em mulheres com índice de massa corporal (IMC) maior que 40, mesmo na ausência de diabetes. Esses achados corroboram a hipótese de que a obesidade materna influencia o crescimento fetal, independente da presença do diabetes, fato que pode explicar, em parte, a falha em prevenir a macrosomia apenas com controle glicêmico em várias séries de estudo (LEPERCQ et al., 2000; MOORE, 2003).

Outros substratos energéticos podem ser responsáveis pelo crescimento anormal em gestações diabéticas, como aminoácidos, lipídios e fatores de crescimento (FREINKEL & METZGER, 1979). A concentração de triglicérides correlaciona-se com o peso ao nascimento e essa associação mantém-se significativa mesmo após o ajuste para IMC pré-concepcional, ganho de peso materno, glicemia de jejum e idade gestacional (KITAJIMA et al., 2001).

Quando comparados RN de mães diabéticas e não diabéticas, os do primeiro grupo são mais pesados, têm maior taxa de gordura corporal e são hiperinsulinêmicos (SIMMONS et al., 1995). O aumento da relação insulina/glicose em sangue de cordão de gestações diabéticas associa-se fortemente com o grau de macrosomia fetal (SALVESEN et al., 1993), assim como a concentração elevada de insulina no cordão umbilical no momento do parto (SCHWARTZ et al., 1994). A hiperinsulinemia fetal também tem sido descrita em fetos macrossômicos de mulheres não diabéticas, sugerindo um envolvimento da insulina no crescimento fetal, independentemente da hiperglicemia materna (HOEGSBERG et al., 1993). A concentração de insulina no líquido amniótico correlaciona-se com o nível de insulina plasmática fetal, peso ao nascimento e risco de hipoglicemia neonatal (FRASER & BRUCE, 1999). A demonstração da associação entre concentração de insulina e porcentagem de

gordura fetal fornece suporte para a teoria de PEDERSEN (1952) de que a hiperinsulinemia fetal em resposta a hiperglicemia materna constitui o fator básico para a fetopatia diabética (MOORE, 2003). O CIR grave observado em RN portadores da mutação congênita da glucoquinase - que resulta em importante redução na produção de insulina pelo feto - comprova o papel central da insulina na mediação do crescimento intra-uterino (SPYER et al., 2001).

Existe considerável interesse no papel desempenhado pelos fatores de crescimento insulina-símile (IGF) no crescimento fetal. A concentração de IGF-I no sangue de cordão correlaciona-se fortemente com o peso ao nascimento (VERHAEGHE et al., 1993; GIUDICE et al., 1995), enquanto que o nível de IGF-II apresenta correlação fraca (WIZNITZER et al., 1998). ROTH et al. (1996) encontraram correlação linear direta entre a concentração de IGF-I no sangue de cordão e o peso ao nascimento, independente da existência do diabetes. Esse achado foi confirmado por JASIK et al. (2001) que encontraram valores mais elevados de IGF-I e insulina em sangue de cordão de recém-nascidos macrossômicos de mães não diabéticas, quando comparados aos de crescimento adequado. Descreve-se, ainda, concentração maior de IGF-I nos RN macrossômicos de mães diabéticas quando comparados aos não macrossômicos de diabéticas e não diabéticas, e comportamento semelhante para IGF-II (ROTH et al., 1996). Estudos experimentais têm demonstrado que IGF-I é um fator promotor de crescimento dominante na fase de crescimento rápido na gestação tardia (BAKER et al., 1993) e o IGF-II representa papel importante no crescimento fetal na gestação inicial (DeCHIARA et al., 1990).

A leptina é uma citocina recentemente descoberta e tem sido considerada como um novo e importante fator de crescimento fetal e desenvolvimento neonatal (HASSINK et al., 1997; MANTZOROS & MOSCHOS, 1998). Vários estudos têm demonstrado uma correlação positiva entre os níveis de leptina em sangue de cordão e peso ao nascimento (HASSINK et al., 1997; SCHUBRING et al., 1997; SIVAN et al., 1997; GOMEZ et al., 1999) confirmando o seu papel no crescimento intra-uterino. Esse fato pode refletir envolvimento ativo da leptina no crescimento fetal ou apenas uma associação com a massa adiposa (HARIGAYA et al., 1997; KOISTINEN et al., 1997; SHEKHAWAT et al., 1998; CINAZ et al., 1999).

2.2 Leptina

2.2.1 Histórico

Em 1994, ZHANG et al. trabalhando com uma linhagem de camundongos obesos conhecidos como Ob/Ob, demonstraram, através de análise genética, que a perda desse gene, cujo produto aparentemente participava da regulação do peso corpóreo, levava à obesidade. O mesmo grupo realizou a determinação da sequência gênica, a síntese do seu produto e identificou o seu homólogo humano, que codifica a produção de uma proteína com sequência praticamente idêntica à produzida em camundongos. Essa, quando administrada aos camundongos obesos, levava à diminuição do seu peso.

No ano seguinte, CHENG et al. (1996) descrevem outra linhagem de camundongos obesos (Db/Db) que se mostraram refratários aos efeitos dessa proteína e neles verificaram que o receptor do gene apresentava-se defeituoso. Seguiram-se, então, numerosos estudos em torno do gene Ob e seu produto, que HALAAS et al., em 1995, denominaram leptina (do grego *leptos*, que significa magro).

O desenvolvimento de radioimunoensaio (RIA) específico para a dosagem de leptina, em 1996 (CONSIDINE et al.), propiciou a ampliação das pesquisas em torno da proteína, até então focadas apenas na obesidade. O surgimento de novos conhecimentos demonstrou que a leptina não é importante apenas na regulação do peso e balanço energético, exercendo funções de mediador metabólico e neuroendócrino (WAUTERS et al., 2000).

2.2.2 Fisiologia

A leptina comporta-se como uma citocina do tipo 1 porque participa da maturação e do crescimento celular (GAINSFORD et al., 1996). Constitui o produto do gene Ob/Ob que se localiza no braço longo do cromossomo 7 (7q31) (GREEN et al., 1995). É um hormônio polipeptídico com tamanho de 18 kb (GONG et al., 1996). Sua produção é maior no tecido adiposo, porém está presente em menores quantidades em outros tecidos como placenta, ossos, cartilagens, dentes, trato gastrointestinal,

epitélio mamário e cérebro (HOGGARD et al., 1997; WIESNER et al., 1999). A liberação ocorre em pulsos, com média de 3,6 a cada 24 horas, usualmente duas a três horas após as refeições. Essa frequência pode variar em função da massa adiposa (SAAD et al., 1998). Sua meia-vida é de 30 minutos (CARO et al., 1996; LICINIO et al., 1997) e a maior parte da excreção é renal (CUMIN et al., 1997).

A leptina circula em forma de complexo estável com uma macroglobulina (BIRKENMEIER et al., 1998; BAJORIA et al., 2002), porém, em indivíduos obesos, predomina na forma livre (HOGGARD et al., 1998). A ação da leptina é dependente da expressão relativa das diferentes formas de receptor nos tecidos alvo. Seus efeitos são mediados por receptores específicos, descritos por TARTAGLIA, em 1997, e esses apresentam várias formas alternativas, diferindo principalmente em seu tamanho. Incluem uma forma longa (Ob-Rb), vários subtipos curtos (Ob-Ra, Ob-Rc, Ob-Re e Ob-Rf) e uma forma solúvel (LEWANDOWSKI et al., 1999). A forma longa tem habilidade sinalizadora, é expressa no hipotálamo e é responsável por mediar os efeitos da leptina na redução de peso corpóreo. Embora a função dos receptores curtos ainda não esteja bem definida, postula-se que atuem como antagonistas da forma longa (Ob-Rb), transportem a leptina através da barreira hemato-encefálica e formem complexo com a macroglobulina para que circule na forma ligada (TARTAGLIA, 1997; BJORBAEK et al., 1998). A ação da leptina é dependente da expressão relativa das diferentes formas dos seus receptores em vários órgãos-alvo (BAJORIA et al., 2002).

2.2.3 Regulação

Fatores hormonais e ambientais controlam a síntese e a secreção da leptina. A massa adiposa é o principal determinante, porém alguns hormônios (insulina, glicocorticóides, estrogênio e progesterona) são capazes de estimular a sua produção (PAPASRYROU-RAO et al., 1997; WABITSCH et al., 1997). Algumas citocinas inflamatórias, como fator de necrose tumoral (TNF α) e interleucina 1 (IL1), agem no tecido adiposo estimulando a produção de RNA mensageiro (RNAm) da leptina, modulando, dessa forma, a sua concentração (MANTZOROS & MOSCHOS, 1998). A administração crônica de melatonina, somatostatina e isoproterenol pode diminuir seus níveis circulantes (DONAHOO et al., 1997) e a própria leptina induz a

redução do seu RNAm (SLIEKERT et al., 1996; HENSON & CASTRACANE, 2000; BAJORIA et al., 2002). Os níveis de leptina no sangue variam em resposta ao jejum e à alimentação, independente de alterações nas reservas de gordura (BODEN et al., 1996).

2.2.4 Funções

A leptina constitui importante modulador neuroendócrino, regulando a gordura corporal, comportamento alimentar, homeostase energética, puberdade, reprodução e gravidez (HENSON & CASTRACANE, 2000; KRATZSCH et al., 2000; WAUTERS et al., 2000; REITMAN et al., 2001; BAJORIA et al., 2002).

O SNC é o local onde exerce a maior parte dos seus efeitos no metabolismo energético, diminuindo a ingestão alimentar, promovendo gasto de energia e diminuindo a eficiência metabólica (REITMAN et al., 2001).

O tecido adiposo constitui a maior fonte de leptina no organismo humano. Entretanto, vários outros tecidos podem produzi-la, pelo menos em algumas circunstâncias. É o caso do epitélio mamário, fundo gástrico, músculos, ossos, cartilagens, dentes, cérebro e placenta (KRATZSCH et al., 2000; REITMAN et al., 2001; SABOGAL & MUÑOZ, 2001). A quantidade da leptina por eles produzida é pequena, sugerindo que essas fontes são mais importantes para vias de regulação autócrinas e parácrinas do que para o controle energético (REITMAN et al., 2001).

Também os receptores da leptina não se encontram apenas no tecido adiposo e SNC (SCHWARTZ et al., 1996; TARTAGLIA, 1997). Já foram identificados nas células da granulosa e da teca no ovário, no endométrio, na decídua e na placenta humana (AGARWAL et al., 1999; ASHWORTH et al., 2000, LEA et al., 2000, SABOGAL & MUÑOZ, 2001).

A leptina parece também atuar como fator permissivo da maturidade reprodutiva, apresentando aumento dos níveis circulantes associados à ocorrência da menarca. Mulheres em idade reprodutiva exibem níveis de leptina mais altos que homens da mesma idade e com a mesma constituição corporal (MAFFEI et al., 1995; CONSIDINE et al., 1996). Essa diferença entre os sexos também é presente em

adolescentes pré-púberes, sendo que os altos níveis de leptina entre as meninas funcionam como um preditor de ganho de massa adiposa e início da puberdade (AHMED et al., 1999). Os níveis de leptina são mais elevados em mulheres com ciclos regulares que naquelas na pós-menopausa (GOWER et al., 2000). Em humanos, a transcrição do RNAm da leptina e de seus receptores ocorre em folículos pré-ovulatórios (CIOFFI et al., 1997). A associação entre estradiol, hCG circulante e leptina na gravidez sugere a existência de relação dinâmica entre essa proteína e os eventos reprodutivos em mulheres (HARDIE et al., 1997).

A gestação é um período de grandes mudanças no corpo ocorrendo ganho de peso significativo em pequeno espaço de tempo, aumento das reservas de gordura, síntese de novos tecidos e importantes alterações metabólicas e hormonais. A produção de leptina ocorre na mãe, no feto e na placenta. Os níveis de leptina periféricos encontram-se elevados na mãe, especialmente no segundo trimestre quando atingem um platô; caem imediatamente após o parto e não se correlacionam ao peso fetal (BUTTE et al., 1997; HARDIE et al., 1997; SCHUBRING et al., 1997; HELLAND et al., 1998; HIGHMAN et al., 1998; SCHUBRING et al., 1998; SIVAN et al., 1998; TAMÁS et al., 1998). Ao contrário, a concentração de leptina fetal correlaciona-se com o peso neonatal (SCHUBRING et al., 1997; SIVAN et al., 1997; MATSUDA et al., 1997; TAMURA et al., 1998) e o peso placentário (KOISTINEN et al., 1997; MATSUDA et al., 1997; VARVARIGOU et al., 1999). Alguns estudos sugerem que a concentração de leptina é mais elevada em fetos do sexo feminino que no masculino (HASSINK et al., 1997; MATSUDA et al., 1997; SCHUBRING et al., 1999; WOLF et al., 2000), enquanto que outros falharam na confirmação desse achado (HARIGAYA et al., 1997; KOISTINEN et al., 1997; SCHUBRING et al., 1997; HELLAND et al., 1998; SHEKHAWAT et al., 1998; TAMURA, 1998; YURA et al., 1998b).

2.2.5 Leptina materna

2.2.5.1 Na gestação normal

Os níveis de leptina na gestante são mais elevados do que na mulher não grávida. A concentração sérica de leptina aumenta continuamente desde 6-8 até 38-40

semanas de gestação, caindo dramaticamente logo após o parto (HARDIE et al., 1997). Numerosos estudos têm demonstrado esta elevação da leptina materna no transcorrer da gestação, apresentando um pico no segundo trimestre e mantendo-se elevados até o parto (BUTTE, HOPKINSON e NICOLSON, 1997; HARDIE et al., 1997; SCHUBRING et al., 1997; HELLAND et al., 1998; HIGHMAN et al., 1998; SIVAN et al., 1998; SCHUBRING et al., 1998; SIVAN et al., 1998; TAMÁS et al., 1998).

A concentração de leptina materna não mostra qualquer relação com dados antropométricos do recém-nascido (SCHUBRING et al., 1997; TAMÁS et al., 1998; TAMURA et al., 1998).

A ascensão dos níveis de leptina materna ocorre tanto na sua porção livre quanto na ligada à macroglobulina (LEWANDOWSKI et al., 1999). No primeiro trimestre da gestação os níveis de leptina livre e ligada não diferem daqueles encontrados em pacientes não grávidas. Ocorre elevação da concentração de leptina livre do primeiro para o segundo trimestre, e manutenção destes níveis no terceiro trimestre. Já a forma ligada aumenta sua concentração do segundo para o terceiro trimestre, constituindo a única elevação real quando comparada a mulheres não grávidas (TEPPA et al., 2000; WIDJAJA e al., 2000).

Na gravidez inicial os níveis séricos de leptina materna correlacionam-se com o peso, o índice de massa corporal (IMC) e com a espessura da prega cutânea, da mesma maneira que ocorre na mulher não grávida (SCHUBRING et al., 1998; GEARY et al., 1999). Entretanto, por ocasião do nascimento, os níveis circulantes de leptina não mais se correlacionam ao peso materno ou ao IMC, sugerindo que, no final da gestação e no parto, a regulação da concentração desta proteína seja diferente daquela existente na mulher não grávida e em outros momentos da própria gravidez (SATTAR et al., 1998; GEARY et al., 1999).

O aumento significativo na concentração de leptina na gravidez inicial, antes da ocorrência de qualquer incremento no peso corporal e nas reservas de gordura e na ausência de alterações na taxa metabólica, sugere a existência de outros fatores, que não só o aumento da massa adiposa, possam refletir nos níveis maternos da

proteína, sugerindo que a gestação represente um estado de resistência à leptina (HIGHMAN et al., 1998).

As altas taxas de leptina circulante na gravidez podem resultar da elevação da secreção pelo tecido adiposo, diminuição no seu *clearance*, surgimento de uma forma circulante do receptor de leptina que funciona como proteína ligada e a sua produção fora do tecido adiposo, principalmente pela placenta (GAVRILOVA et al., 1997; KRATZSCH et al., 2000; WAUTERS et al., 2000; BAJORIA et al., 2002).

O aumento na concentração de leptina materna pode ser atribuído à produção placentária por, pelo menos, três razões: primeiro, ocorre queda abrupta nos níveis de leptina materna para os valores pré-gravídicos imediatamente após a expulsão da placenta. Segundo, não há correlação entre as mudanças no IMC e dosagem de leptina materna e, finalmente, a elevação da leptina materna precede o aumento da massa de gordura (HIGHMAN et al., 1998; HENSON e CASTRACANE, 2000; WAUTERS et al., 2000, BAJORIA et al., 2002). Estudos *in vitro* de perfusão placentária confirmaram a liberação proporcionalmente mais elevada da leptina na circulação materna que na fetal (LINNEMANN et al., 2000, LEPERCQ et al. 2001). Todavia, hormônios gestacionais como β -hCG e estrogênio também podem levar a hiperleptinemia materna (BUTTE, HOPKINSON e NICOLSON, 1997). LEPERCQ et al., em 2001 demonstraram que 95% da leptina secretada pela placenta é lançada na circulação materna.

Assim, a concentração de leptina materna circulante reflete a soma da quantidade secretada pelo tecido adiposo, que é proporcional aos níveis de gordura corporal da mãe, com aquela produzida pela placenta, cuja quantidade independe da taxa de gordura corporal (REITMAN et al., 2001).

O papel fisiológico da leptina materna durante a gestação ainda não está bem estabelecido. A gravidez representa um estado hipermetabólico com aumento na massa adiposa e no peso corporal, e alteração no perfil neuroendócrino. O balanço energético é positivo com aumento na ingestão alimentar visando à preservação das reservas maternas de energia. Esta hiperleptinemia materna é paradoxal, pois não ocorre diminuição na ingestão ou redução da atividade metabólica, indicando estado

de resistência à leptina ao nível do hipotálamo, semelhante àquele que ocorre na obesidade, podendo resultar de alterações no padrão de expressão dos receptores hipotalâmicos, isoforma longa e curta. Esta irresponsividade dos receptores de leptina provê estoques adicionais de energia, preparando a mulher para o estresse do parto e para estabelecimento da lactação. A diminuição dos níveis maternos de leptina logo após o nascimento promove estímulo para aumentar a captação e reservas de energia (HENSON e CASTRACANE, 2000; KRATZSCH et al., 2000; WAUTERS et al., 2000; BAJORIA et al., 2002).

2.2.5.2 Na gestação patológica

Alterações nos níveis séricos de leptina maternos podem indicar algum processo fisiopatológico intercorrente à gravidez (KRATZSCH et al., 2000). A leptina é um hormônio importante para a manutenção da gestação como demonstrado por vários estudos, sendo a sua concentração diminuída em mulheres que abortam e elevada entre aquelas que desenvolvem pré-eclâmpsia e diabetes, condições clínicas em que ocorre desenvolvimento inadequado da unidade feto-placentária (BAJORIA et al., 2002).

a) aborto

Mulheres que sofrem aborto espontâneo no primeiro trimestre da gestação apresentam taxas de leptina cerca de 38% mais baixas quando comparadas aquelas nas quais a gravidez alcança o termo sem complicações associadas (LAGE et al., 1999). Estudo prospectivo realizado por LAIRD et al., em 2001 em mulheres com história de perda gestacional de repetição, revelou concentrações de leptina mais baixas entre mães que abortaram, quando comparadas aquelas nas quais a gravidez progrediu e originou recém-nascidos vivos. Estes dados sugerem uma possível função da leptina na manutenção da gestação e que ela pode ser considerada como um indicador da interrupção da gravidez, naturalmente no termo ou como resultado de alguma patologia, em qualquer momento da gestação (KRATZSCH et al., 2000, BAJORIA et al., 2002).

b) pré-eclâmpsia

As concentrações de leptina materna encontram-se significativamente elevadas em

gestações complicadas por pré-eclâmpsia quando comparadas com controles pareados da mesma idade gestacional (McCARTHY et al., 1999, TEPPA et al., 2000). A hiperleptinemia materna precede o desenvolvimento da pré-eclâmpsia, e, ao surgirem os sinais clínicos, sua concentração eleva-se ainda mais (ANIM-NYAME et al., 2000). Este aumento da leptina total é atribuído exclusivamente a sua fração livre (TEPPA et al., 2000). As alterações na concentração de leptina materna correlacionam-se com os níveis de pressão arterial e com as concentrações de ácido úrico (ANIM-NYAME et al., 2000). Essas observações sugerem que a dosagem de leptina materna possa ser utilizada como um marcador laboratorial do desenvolvimento da pré-eclâmpsia (BAJORIA et al., 2002).

A elevação da leptina materna que ocorre na pré-eclâmpsia parece dever-se ao incremento na sua produção pela placenta, em resposta a hipóxia e a elevação das citocinas pró-inflamatórias circulantes, como o fator de necrose tumoral α e interleucina 1, que aumentam os níveis placentários de RNAm da leptina (MISE et al., 1998).

Na pré-eclâmpsia, a concentração elevada da leptina materna é independente da massa adiposa e associa-se à redução na sensibilidade à insulina. Esses achados sugerem que a hiperleptinemia possa estar envolvida na síndrome de resistência a insulina (McCARTHY et al, 1999; KRATZSCH et al., 2000).

c) diabetes

Mulheres portadoras de DM1 apresentam concentração de leptina semelhante aquelas com tolerância normal à glicose, enquanto aquelas que desenvolvem diabetes gestacional apresentam níveis elevados quando comparados às diabéticas do tipo 1 e as não diabéticas (STOCK & BREMME, 1998; LEWANDOWSKI et al., 1999; KAUTZKY-WILLER et al., 2001).

O mecanismo básico responsável pela diferença entre a concentração de leptina materna em pacientes com DM1 e DMG permanece obscuro. É possível que possa ser atribuído a diferença na concentração de insulina e a potencial interação entre leptina, insulina e receptor solúvel da leptina. Gestantes portadoras de DMG apresentam resistência à insulina mais severa e padrão de secreção de insulina

anormal quando comparadas a controles pareados sem intolerância aos carboidratos. Assim, a hiperleptinemia poderia refletir aumento do IMC e alteração da dinâmica de secreção da insulina, em pacientes que desenvolvem DMG (KAUTZKY-WILLER et al., 2001, BAJORIA et al., 2002).

2.2.5.3 Lactação

A presença do receptor de RNAm da leptina em células do epitélio mamário sugere fortemente papel desta proteína no desenvolvimento e crescimento da glândula mamária (HENSON & CASTRACANE, 2000, BAJORIA et al., 2002).

Durante a gravidez o aparelho secretor das glândulas mamárias sofre modificações, desenvolvendo-se através da interação com vários hormônios. Insulina, cortisol e hormônios tireoidianos são necessários, porém, estrogênio, progesterona e prolactina são os principais promotores destas mudanças. Após o parto a queda do estrogênio e progesterona permite que a prolactina inicie o processo da lactação. Sua secreção e liberação dependem de vários mecanismos de regulação controlados, em última análise, pelo hipotálamo. A leptina pode afetar indiretamente a produção de leite, fato sugerido pela forte correlação negativa entre os níveis maternos de leptina e prolactina no período inicial da lactação (BUTTE et al., 1997). Esses autores não encontraram diferenças significativas nos níveis de leptina entre mulheres que amamentaram ou não. Entretanto, MUKERJEA et al. (1999) demonstraram concentração significativamente mais elevada de leptina circulante entre mulheres que amamentavam, comparadas com aquelas que não lactaram, sugerindo outra função para a proteína, de mobilizadora dos estoques de energia, condição de prover a nova demanda surgida com a lactação.

A queda da concentração de leptina após o parto também parece ter papel na redução da fertilidade durante o período da lactação (WAUTERS et al., 2000).

Leptina está presente no leite materno em altas concentrações, correlacionando-se com a taxa de gordura materna (BAJORIA et al., 2002).

2.2.6 Leptina fetal e neonatal

Os níveis de leptina fetal, sua regulação e função ainda não estão completamente elucidados (MATSUDA et al., 1997). O peso e a composição corporal mudam significativamente no feto, que depende completamente do transporte transplacentário para seu suprimento de energia (CHRISTOU et al., 2001).

A presença da leptina no sangue de cordão indica que há síntese e secreção pelo feto. A concentração nos recém-nascidos é comparável à encontrada em adultos (SIVAN et al., 1997). A leptina é detectada no sangue fetal desde a 18ª semana de gestação, em concentração inferior à materna, e correlaciona-se com peso ao nascimento e peso placentário (JAQUET et al., 1998; CETIN et al., 2000). Os valores médios encontrados foram semelhantes em vários estudos (HASSINK et al., 1997; SCHUBRING et al., 1997; SIVAN et al., 1997; TAMURA et al., 1998; SCHULZ et al., 2000). MATSUDA et al. (1997) descrevem este mesmo padrão materno e fetal, porém com médias de leptina acentuadamente mais elevadas, enquanto MANTZOROS & MOSCHOS (1998) encontram médias inferiores.

A concentração de leptina fetal correlaciona-se com a idade gestacional, fato que é consistente com o padrão de desenvolvimento do tecido adiposo e acúmulo de massa adiposa pelo feto no transcorrer da gravidez (SHEKHAWAT et al., 1998; CETIN et al., 2000).

Alguns estudos sugerem que a concentração de leptina é mais elevada em fetos do sexo feminino que no masculino (HASSINK et al., 1997; MATSUDA et al., 1997; SCHUBRING et al., 1999; WOLF et al., 2000), enquanto outros falharam na confirmação deste achado (KOISTINEN et al., 1997; HARIGAYA et al., 1997; SCHUBRING et al., 1997; HELLAND et al., 1998; SHEKHAWAT et al., 1998; TAMURA, 1998; YURA et al., 1998). O significado e o mecanismo de associação entre sexo e leptina fetal ainda não é bem compreendido. A ausência de diferença entre peso ao nascimento, relação peso/altura, conteúdo e distribuição de gordura corporal, concentração sérica de estrogênio e testosterona entre recém-nascidos do sexo feminino e masculino sugere que possíveis diferenças na concentração fetal de leptina possam dever-se a causas genéticas (MATSUDA et al., 1997).

Os níveis de leptina no cordão umbilical também são influenciados pelo tipo de parto, sendo mais altos em recém-nascidos de parto via vaginal quando comparados aos de via abdominal (YOSHIMITSU et al., 2000). A presença de diferença positiva entre os níveis venosos e arteriais da leptina de cordão em fetos que nasceram via vaginal e a ausência dessa diferença no grupo em que o parto ocorreu por cesariana, fornece evidência para maior liberação da leptina placentária em resposta aos altos níveis fetais de cortisol ou hipóxia devido à presença de contrações uterinas do trabalho de parto. Essa diferença permaneceu significativa mesmo após ajuste para peso ao nascimento, sexo e peso placentário, fatores que podem influenciar a dosagem de leptina fetal (YOSHIMITSU et al., 2000; TAKAHASHI et al., 2002). Estudos anteriores já haviam descrito níveis mais elevados de leptina na veia umbilical quando comparado à artéria, porém os casos estudados não foram separados por modo de parto (MATSUDA et al., 1997; SCHUBRING et al., 1997; SIVAN et al., 1997; YURA et al., 1998a; CETIN et al., 2000).

Em recém-nascidos a termo, a concentração de leptina no cordão correlaciona-se com peso placentário (KOISTINEN et al., 1997; MATSUDA et al., 1997; VARVARIGOU et al., 1999), peso ao nascimento e insulina fetal (SCHUBRING et al., 1997; SIVAN et al., 1997; MATSUDA et al., 1997; TAMURA et al., 1998), índice ponderal, estatura e circunferência cefálica (KOISTINEN et al., 1997), sugerindo potencial associação entre leptina e crescimento fetal. Essa associação é questionada por outros autores (HARIGAYA et al., 1997; MAFFEI et al., 1998).

A ausência de correlação entre os níveis de leptina materna e de cordão encontrada pela maior parte dos autores sugere um modelo teórico de dois compartimentos não comunicantes para a regulação da leptina feto-placentária (SCHUBRING et al., 1997; GEARY et al., 1999; TAMÁS et al., 1998; BAJORIA et al., 2002). Entretanto, VARVARIGOU et al. (1999) e CASTRO (2002) descrevem associação significativa entre leptina fetal e materna, sugerindo a possibilidade de que a leptina possa atravessar a barreira placentária estabelecendo um elo entre o estado nutricional materno e fetal (KRATZSCH et al., 2000).

A origem da leptina para a circulação fetal permanece controversa, sendo a placenta e o tecido adiposo fetal considerados suas duas principais fontes (BAJORIA et al.,

2002). Gradiente positivo de concentração veno-arterial da leptina, juntamente com sua significativa e aguda queda no pós-parto sugerem a sua origem placentária (SATTAR et al., 1998; YURA et al., 1998; YOSHIMITSU et al., 2000). Recentes dados obtidos de estudos *in vitro* de perfusão placentária demonstram que a maior parte da leptina produzida pela placenta é liberada na circulação materna (98%) e apenas 1,6 % na circulação fetal (LINNEMANN et al., 2001), taxa cerca de 32 vezes mais elevada que aquela encontrada para outros hormônios placentários como β -hCG e hPL (LINNEMANN et al., 2001). Em 2001, LEPERCQ et al., através do método de dupla perfusão de cotilédone placentário, determinaram a taxa de produção de leptina pela placenta e sua liberação proporcionalmente mais elevada na circulação materna que na fetal (95% e 5%, respectivamente). A presença de RNAm da leptina transcrito em placentas de primeiro e terceiro trimestres reforça a hipótese que a placenta é importante fonte de leptina fetal (MASUZAKI et al., 1997). A associação entre peso ao nascimento e níveis de leptina fetal em recém-nascidos de gestações normais e patológicas sugere que a massa adiposa contribui para a síntese de leptina fetal. Estudos recentes revelam que a concentração de leptina no sangue de cordão umbilical é independente da produção placentária podendo ser considerada como marcador de massa adiposa em fetos humanos (BAJORIA et al., 2002). Leptina e seu RNAm foram detectados em biópsias *post mortem* de tecido adiposo de fetos humanos entre 20 e 38 semanas de gestação, em concentração duas vezes mais baixa que em adultos (LEPERCQ et al., 2001). Entretanto, análise imuno-citoquímica de tecido subcutâneo de embriões humanos entre seis e 10 semanas de gestação indicam que a leptina é produzida pelos adipócitos em desenvolvimento, desde a lipidogênese e da diferenciação celular (ATANASSOVA & POPOVA, 2000; BAJORIA et al., 2002).

Os elevados níveis placentários de leptina associados com sua baixa concentração circulante em fetos com crescimento restrito quando comparados aos fetos grandes para a idade gestacional, indicam que a principal fonte de leptina fetal é o seu tecido adiposo (LEPERCQ et al., 2001).

Assim a leptina fetal teria duas origens distintas: na gestação inicial, a placenta exerce papel importante na ausência de tecido adiposo fetal, que se tornaria o seu principal produtor posteriormente (BAJORIA et al., 2002).

A despeito da porcentagem da massa adiposa e do padrão de crescimento intra-uterino ao nascimento, ocorre queda importante na concentração de leptina circulante no RN do primeiro até o quinto dia de vida (YURA et al., 1998a; HYTINANTTI et al., 2001; JAQUET et al., 1999; SCHUBRING et al., 1999).

A queda pós-natal da concentração sérica de leptina parece fazer parte da adaptação fisiológica as profundas alterações na homeostase necessárias a vida extra-uterina, estimulando o início da alimentação e manutenção do balanço energético (SCHUBRING et al., 1998).

Os RN com restrição do crescimento intra-uterino apresentam concentração mais baixa de leptina ao nascimento. Entretanto, ao final do primeiro ano de vida os seus valores séricos suplantam aqueles dos recém-nascidos com peso adequado. Esta diferença tende a desaparecer no final do segundo ano de vida e parece ser importante determinante no *catch-up* das crianças portadoras de CIR (JAQUET et al., 1999; ONG et al., 1999).

HYTINNANTI et al. (2001) encontraram entre os recém-nascidos de gestações complicadas pelo diabetes, valores médios de leptina mais elevados que aqueles do grupo controle, principalmente na sua porção livre. Em ambos os grupos houve queda dos valores nos 3 dias que se seguiram ao parto, porém a percentagem de leptina livre manteve-se elevada entre as crianças do grupo de diabéticas. MALEE et al. (2002) apresentam resultados de uma coorte crianças nascidas de gestações complicadas pelo DMG e de gestações não complicadas, acompanhadas por nove anos, e com manutenção de concentração de leptina mais elevada na prole das diabéticas. Os autores encontraram também associação entre o nível de leptina materno e das crianças entre as diabéticas.

2.2.7 Leptina placentária

A placenta é um órgão peculiar que desempenha papéis ainda não totalmente compreendidos no organismo materno e fetal. Além de controlar as trocas respiratórias e de nutrientes entre mãe e feto, possui a capacidade de sintetizar e

secretar vários hormônios, fato que lhe concede *status* de órgão endócrino (SEÑARIS et al., 1997).

O trofoblasto humano produz hormônios esteróides e polipeptídios, fatores de crescimento e citocinas, responsáveis pela manutenção da gestação e adaptação materno-fetal, entre eles estradiol, progesterona, gonadotrofina coriônica, lactogênio placentário, fator de necrose tumoral α e interleucina 6 (YURA et al., 1998b; MOUZON & LEPERCQ, 2001).

Embora a leptina tenha sido inicialmente descrita como sendo de produção exclusiva do tecido adiposo, sua presença no líquido amniótico (BUTTE et al., 1997; MASUZAKI et al., 1997), a existência de diferença positiva entre a concentração arterial e venosa no sangue de cordão (MATSUDA et al., 1997; SCHUBRING et al., 1997; SIVAN et al., 1997; YURA et al., 1998a) e seu rápido declínio na circulação materna após o parto (SATTAR et al., 1998; YURA et al., 1998a; YOSHIMITSU et al., 2000) indicam a sua síntese pela placenta.

Em 1997, SEÑARIS et al., utilizando técnica da reação em cadeia da polimerase e imunohistoquímica, demonstraram a síntese de leptina nas células do sinciciotrofoblasto de placentas humanas, como uma variante molecular única, idêntica àquela secretada pelo tecido adiposo em tamanho, carga e imunorreatividade. Esses achados foram confirmados por MASUZAKI et al. (1997) que demonstraram ser a expressão do gene Ob mais abundante na vilosidade coriônica de primeiro trimestre e menor no de terceiro trimestre e no âmnio. A decídua vera e o miométrio não exibem quantidade significativa de RNAm Ob. O gene placentário possui uma região com três sítios de ligação de proteínas, sugerindo que sua regulação possa ser diferente daquela do gene presente no tecido adiposo (EBIHARA et al., 1997).

O RNAm da leptina humana localiza-se no sinciciotrofoblasto na interface materna e nas células do endotélio vascular da vilosidade coriônica em contato direto com o sangue fetal (BODNER et al., 1999; ASHWORTH et al., 2000). A expressão da leptina placentária foi demonstrada pela detecção do RNAm em placentas de primeiro, segundo e terceiro trimestres gestacionais, com declínio no transcorrer da

gravidez, contrastando com a elevação da sua concentração na circulação materna (HENSON et al., 1998).

A vilosidade de primeiro trimestre secreta 50 vezes mais leptina quando comparada à vilosidade ao termo, potencializada pela IL1, IL6 e estradiol (CHARDONNENS et al., 1999). A quantidade de leptina secretada pela placenta humana aumenta com a idade gestacional, correlaciona-se positivamente com a concentração de estradiol e β -hCG (HARDIE et al., 1997) e é comparável ou maior àquela secretada pelo tecido adiposo (XIAOMING et al., 2001).

Estudos *in vitro* de perfusão placentária mensurando a concentração de leptina através de radioimunoensaio, encontraram uma taxa de 225 pg de leptina por grama de tecido placentário. Deste total, 98,5% é lançado na circulação materna e 1,6% na circulação fetal (LINNEMANN et al., 2000). LEPERCQ et al. (2001) utilizando método de dupla perfusão de cotilédone placentário confirmaram a liberação proporcionalmente mais elevada da leptina na circulação materna que na fetal (95% e 5%, respectivamente). O percentual de liberação da leptina na circulação fetal, quando comparado com a taxa de liberação de outros hormônios no mesmo experimento (hCG e hPL, 0,05%), é considerado maior que o esperado para sua massa molecular (LINNEMANN et al., 2001).

A placenta também possui receptores para leptina que se localizam no sincitiotrofoblasto, e são identificados tanto na gravidez inicial quanto no termo (HENSON et al., 1998). Estes autores encontraram ambas as formas de receptores (longa e curta) nas placentas por eles estudadas. Entre as formas curtas a variante Ob-Ra é considerada como forma de transporte, Ob-Rb como sinalizadora (HOGGARD et al., 1997) e Ob-Re como forma solúvel (GAVRILOVA et al., 1997). BODNER et al. (1999) demonstraram transcrição abundante e específica das formas longa e curta dos receptores de leptina no vilo apical do sincitiotrofoblasto humano. Assim como a leptina, seus receptores estão localizados no sincitiotrofoblasto na interface materna, constituindo a placenta fonte e alvo desta citocina (ASHWORTH et al., 2000). Dessa forma, a leptina placentária exerce atividades autócrinas e parácrinas (SEÑARIS et al., 1997; HENSON et al., 1998; ASHWORTH et al., 2000; BAJORIA et al., 2002; LEPERCQ & MOUZON, 2002).

A principal função parácrina da leptina produzida pela placenta, no organismo materno, ainda não está totalmente esclarecida. Entretanto é provável que exerça atividade endócrina no apetite, metabolismo e deposição de gordura. Acentuada elevação dos níveis de leptina na circulação materna durante a gravidez quando as necessidades de nutrientes estão aumentadas, sugere função alternativa para a citocina, indicando para algum grau de resistência a leptina (ASHWORTH et al., 2000). Uma possível explicação para tal contradição pode estar na liberação pela placenta da forma solúvel do receptor da leptina (Ob-Re), promovendo a sua ligação a ele como forma de protegê-la da degradação ou excreção, levando a um pico na concentração de leptina materna circulante, ao mesmo tempo em que a impede de ligar-se com a forma sinalizadora do receptor, implementando, desse modo, a resistência a leptina (GAVRILOVA et al., 1997). A concentração do receptor solúvel diminui entre 20 e 30 semanas de gestação (LEWANDOWSKI et al., 1999). Uma vez que os dois primeiros trimestres gestacionais são considerados como anabólicos e o último trimestre como catabólico, a elevação da leptina livre na mãe desempenha papel importante na regulação do apetite e do metabolismo na gravidez tardia (ASHWORTH et al., 2000).

Quanto à sua ação parácrina no feto, numerosos estudos vêm constatando a existência de correlação positiva entre a concentração de leptina no cordão umbilical e peso ao nascimento (HASSINK et al., 1997; SCHUBRING et al., 1997), levando a leptina a ser considerada como um importante novo fator determinante no crescimento intra-uterino e desenvolvimento neonatal (HASSINK et al., 1997). A demonstração da sua presença no endotélio do vilo terciário da placenta (LEA et al., 1998) e a concentração mais elevada na veia em comparação à artéria umbilical (YURA et al., 1998a) reforça ser a leptina de origem placentária importante para o crescimento e desenvolvimento fetal, sem excluir a contribuição daquela produzida pelo próprio feto (ASHWORTH et al., 2000). Os estudos de HOGGARD et al. (2000) reforçam as evidências que o feto é alvo da leptina placentária, quando demonstra a presença de receptores de RNAm da leptina em tecidos fetais específicos como cartilagem, osso, pulmão, rins, testículos, folículos pilosos, leptomeninges e plexo coróide.

A concentração de leptina no cordão umbilical também se correlaciona positivamente com o peso placentário (KOISTINEN et al., 1997; MATSUDA et al., 1997; SCHUBRING et al., 1997; VARVARIGOU et al., 1999, CETIN et al., 2000), indicando possível mecanismo pelo qual a placenta regule o seu próprio crescimento. O modo como esta regulação é feita ainda é obscuro. Acredita-se que a leptina desempenhe papel autócrino na placenta, estimulando a angiogênese (SIERRA-HONIGMENN et al., 1998), provavelmente de modo indireto através da estimulação de outros fatores angiogênicos como o fator de crescimento endotelial vascular (MÜHLHAUSER et al., 1996).

A leptina placentária também apresenta função autócrina local exercendo papel como imunomodulador ou antiinflamatório (ASHWORTH et al., 2000), desempenhando importante papel na invasão trofoblástica das artérias espiraladas (BAJORIA et al., 2002). Estudos *in vitro* sugerem que a leptina promove a invasão do trofoblasto através da modulação de vários fatores de crescimento trofoblástico incluindo 17β -estradiol e citocinas, como o TNF e a IL1. Esses, por sua vez, promovem estímulo à secreção de leptina (CASTELLUCCI et al., 2000).

A produção da leptina placentária está aumentada no curso de algumas doenças como a doença trofoblástica gestacional, pré-eclâmpsia e DM1, associado à gravidez (MOUZON & LEPERCQ, 2001). A heterogeneidade das patologias gravídicas que alteram a secreção da leptina levando ao incremento de sua produção pela placenta sugere que a sua regulação é complexa e multifatorial, existindo mecanismos específicos para cada situação. Os estrogênios, o estresse hipóxico e a insulina são os principais fatores conhecidos capazes de aumentar a produção placentária da leptina em condições fisiopatológicas (LEPERCQ & MOUZON al, 2002).

Hormônios esteróides participam na regulação da produção da leptina, como demonstrado pela correlação positiva entre a concentração de estradiol e leptina (HARDIE et al., 1997). Na pré-eclâmpsia, existem alterações vasculares intrínsecas a placenta que se associam a hipóxia, que por sua vez estimula a produção de leptina pelas células do trofoblasto (MISE et al., 1998). A hiperinsulinemia materna que acompanha os estados de diabetes pode estimular a produção placentária de

leptina levando a transcrição da proteína do gene placentário como se fosse análogo ao gene adipocitário. Essa teoria ainda necessita confirmação ao nível molecular (LEPERCQ et al, 1999; MOUZON & LEPERCQ, 2001).

Na gestação molar e no coriocarcinoma, ocorre aumento da leptinemia materna sem que coexistam alterações no índice de massa corporal. Após o esvaziamento da cavidade uterina ou tratamento quimioterápico ocorre queda dos valores, que retornam a elevar-se em caso de recidiva tumoral (MASUZAKI et al., 1997). Nesses casos a hiperleptinemia associa-se ao aumento da expressão do gene Ob refletindo elevação da síntese do hormônio *in situ* (MOUZON & LEPERCQ, 2001; LEPERCQ & MOUZON, 2002).

Na pré-eclâmpsia, também ocorre elevação na produção placentária da leptina provavelmente devido à hipóxia (MISE et al., 1998). Isso pode explicar a elevação da leptinemia nessas gestantes, uma vez que a sua liberação é maior na circulação materna que na fetal (LINNEMANN et al., 2001; LEPERCQ et al., 2001). Em contrapartida, os fetos de pacientes que desenvolvem pré-eclâmpsia e apresentam restrição ao crescimento, têm concentração umbilical de leptina baixa, correlacionada à gravidade do CIR e a perda proporcional do seu tecido adiposo (MOUZON & LEPERCQ, 2001; LEPERCQ & MOUZON, 2002).

Finalmente, na gravidez que cursa em pacientes portadoras do DM1, a quantidade de leptina produzida pela placenta encontra-se aumentada (LEPERCQ et al., 1998). Contrastando com o que ocorre na pré-eclâmpsia, este aumento da produção placentária não se acompanha de hiperleptinemia materna. Ao contrário, os fetos de mães diabéticas é que se apresentam hiperleptinêmicos, relacionando-se ao índice ponderal neonatal, que é um bom marcador da massa adiposa do recém-nascido (LEPERCQ et al., 1999).

2.3 Leptina no diabetes

A gestação constitui modelo único para a investigação do metabolismo do tecido adiposo devido às profundas alterações hormonais que ocorrem nesse período. Coexistem hiperinsulinemia, resistência aumentada à insulina, aumento da

concentração do cortisol, estrogênios e progesterona, e surgimento do hPL (LEWANDOWSKI et al., 1999). Os dois primeiros trimestres são considerados predominantemente anabólicos, com acúmulo de gordura pela gestante. O último trimestre caracteriza-se pelo catabolismo, lipólise, aumento dos ácidos graxos livres, deposição mínima de gordura e aumento dos triglicérides (KING et al., 1994).

A leptina é produzida pelo tecido adiposo e também secretada pela placenta, representando papel importante nas complexas interações que envolvem o controle do apetite e metabolismo de gordura na gestação (LEWANDOWSKI et al., 1999). Sua concentração está aumentada durante a gravidez (BUTTE et al., 1997; HARDIE et al., 1997; SCHUBRING et al., 1997; HELLAND et al., 1998) e, provavelmente, resulta da secreção placentária (MASUZAKI et al., 1997; SEÑARIS et al., 1997). É encontrada em sangue de cordão e seus níveis são relacionados ao peso fetal, apesar de não ter sido demonstrada relação consistente entre a sua concentração na mãe e crescimento fetal (TAMURA et al., 1998). A leptina tem efeito direto nas células β -pancreáticas como agente supressor e interfere com a atividade da insulina nos hepatócitos (SLIEKER et al., 1996).

Estados de hiperinsulinemia crônica são associados à elevação do nível de leptina circulante (KOLACZYNSKI et al., 1996; BODEN et al., 1997). A insulina aumenta a síntese de RNAm da leptina nos adipócitos, efeito potencializado pelo cortisol (WABTSCH et al., 1996) e, a longo prazo, estimula a produção de leptina (KOLACZYNSKI et al., 1996). Pacientes portadores de DM2 tratados com insulina apresentam concentração de leptina maior que controles usuários de hipoglicemiantes orais (CLEMENT et al., 1997; WIDJAJA et al., 1997). Homens em uso de insulina também apresentam hiperleptinemia (TUOMINEM et al., 1997) e situações onde regime de uso intensivo de insulina é necessário associam-se a ganho de peso aumentado (CARLSON & CAMPBELL, 1993). Esses achados sugerem a presença de alguma forma de resistência à leptina entre diabéticos (LEWANDOWSKI et al., 1999). A insulina fetal também é capaz de estimular a expressão do gene Ob/Ob induzindo a secreção de leptina pelos adipócitos e exercendo papel de contra-regulador através da supressão da produção de insulina pelo pâncreas (KIEFFER et al., 1996). Esses achados sugerem a existência de um eixo “adipo-insular” mediado pela leptina que, juntamente com a atividade da

glicose, insulina e IGF exercem papel importante na regulação do crescimento dos fetos em gestações complicadas pelo diabetes (EIDELMAN & SAMUELOFF, 2002). STOCK & BREMME (1998) avaliaram os níveis séricos de leptina durante a gestação e um mês após o parto em pacientes normais e em portadoras de DM1. Os autores encontraram nos dois grupos de estudo, padrão semelhante ao já descrito para as gestações não complicadas, com elevação da concentração de leptina no transcorrer do segundo trimestre seguido de platô no último trimestre e queda importante após o parto (BUTTE et al., 1997; HARDIE et al., 1997; SCHUBRING et al., 1997; SIVAN et al., 1997; HELLAND et al., 1998; HIGHMAN et al., 1998; SCHUBRING et al., 1998; SIVAN et al., 1998; TAMÁS et al., 1998). Esses achados foram confirmados por LEWANDOWSKI et al. (1999) e LAUSZUS et al. (2001). Entretanto, LAUSZUS et al. (2001) e CETIN et al., 2000 encontraram nível de leptina crescente no terceiro trimestre gestacional entre as pacientes do grupo DM1.

Estudos comparando gestantes normais e portadoras de DM1 (STOCK & BREMME, 1998; MANDERSON et al., 2003) e comparando gestantes normais, portadoras de DM1 e aquelas que desenvolvem DMG (KAUTZKY-WILLER et al., 2001) descrevem concentração de leptina materna semelhante entre as pacientes portadoras de DM1 e as saudáveis. LEWANDOWSKI et al. (1999) avaliaram o nível de leptina total, leptina livre e leptina ligada, e o seu receptor solúvel, encontrando valores similares para a forma livre entre gestantes normais e diabéticas (DM1 e DMG), a despeito da necessidade de aumento das doses de insulina entre as gestantes portadoras de DM1. Entretanto, a concentração do receptor solúvel foi significativamente mais elevada no último grupo e correlacionou-se ao seu IMC.

O DMG desenvolve-se com mais freqüência em mulheres com risco para obesidade, DM2 e doenças cardiovasculares, representando uma face da síndrome de resistência à insulina (KAUTZKY-WILLER et al., 2001). Estudos demonstram que a concentração de leptina é maior em mulheres com DMG quando comparada a gestantes saudáveis (KAUTZKY-WILLER et al., 2001; VITORATOS et al., 2001; CSEH et al., 2002, LIU et al, 2003), a pacientes que apresentam intolerância aos carboidratos (LIU et al., 2003) e às portadoras de DM1 (KAUTZKY-WILLER et al., 2001). Contraditoriamente, FESTA et al. (1999) encontraram hipoleptinemia entre gestantes portadoras de DMG leve, quando comparadas a controles com tolerância

normal à glicose. Em estudo prospectivo recente, QIU et al. (2004) encontraram que a hiperleptinemia na gestação inicial, independente do IMC materno, associou-se com o desenvolvimento de DMG. Os autores relatam ainda correlação linear forte entre o aumento da concentração plasmática de leptina e o risco de DMG.

A leptinemia materna não mostra associação com dados antropométricos de recém-nascidos e com a concentração de leptina em sangue de cordão em gestações complicadas pelo diabetes (GROSS et al., 1998; PERSSON et al., 1998; MANDERSON et al., 2003).

A concentração de leptina fetal correlaciona-se com a idade gestacional - fato que é consistente com o padrão de desenvolvimento do tecido adiposo e acúmulo de massa adiposa pelo feto no transcorrer da gravidez (SHEKHAWAT et al., 1998; CETIN et al., 2000) – e é independente da produção placentária podendo ser considerada como marcador de massa adiposa em fetos humanos (BAJORIA et al., 2002). Nos fetos de diabéticas, é descrito padrão de crescimento característico, ocorrendo acúmulo de gordura principalmente no tronco; os ombros são mais largos e a prega cutânea mais espessa (McFARLAND et al., 1998). A massa adiposa é mais importante em relação ao peso corporal total, sendo responsável por 25 a 30% dele (LAPILLONNE et al., 1997).

Vários autores documentaram concentração mais elevada de leptina em sangue de cordão de recém-nascidos de mães diabéticas quando comparados a recém-nascidos de gestações saudáveis (GROSS et al., 1998; LEPERCQ et al., 1998; MAFFEI et al., 1998; PERSSON et al., 1998; SHEKHAWAT et al., 1998; CETIN et al., 2000; LEA et al., 2000; TAPANAINEN et al., 2001; HIÉRONIMUS et al., 2002; OKEREKE et al., 2002; VITORATOS et al., 2002; MANDERSON et al., 2003).

O nível de leptina é significativamente mais alto entre os RN de pacientes portadoras de DM1 quando comparado a pacientes saudáveis (MAFFEI et al., 1998; PERSSON et al., 1998; LEA et al., 2000; TAPANAINEN et al., 2001; HIÉRONIMUS et al., 2002; MANDERSON et al., 2003) e a portadoras de DMG (MAFFEI et al., 1998; PERSSON et al., 1998; LEA et al., 2000; TAPANAINEN et al., 2001; HIÉRONIMUS et al., 2002). Comportamento semelhante ocorre quando comparadas gestantes que

desenvolvem DMG e aquelas com tolerância normal à glicose (CETIN et al., 2000; TAPANAINEN et al., 2001; OKEREKE et al., 2002; VITORATOS et al., 2002).

Contudo, estudo prospectivo realizado por NG et al., (2000) não encontrou essa associação. Os autores estudaram gestantes saudáveis e gestantes portadoras de DM1 e DMG (um grupo apenas com controle dietético e outro com necessidade de insulina) e não observaram diferença significativa entre a concentração de leptina em sangue de cordão nos grupos avaliados, apesar da média mais elevada ocorrer entre os recém-nascidos das pacientes usuárias de insulina.

A concentração de leptina de cordão dos RN de gestantes diabéticas correlaciona-se significativamente com o peso ao nascimento, independente da classificação do diabetes materno (GROSS et al., 1998; MAFFEI et al., 1998; PERSSON et al., 1998; CETIN et al., 2000; NG et al., 2000; TAPANAINEN et al., 2001; OKEREKE et al., 2002; VITORATOS et al., 2002; MANDERSON et al., 2003).

A associação entre leptina e insulina no sangue de cordão foi demonstrada em recém-nascidos de pacientes portadoras de DM1 (MAFFEI et al., 1998; NG et al., 2000) e DMG (NG et al., 2000; TAPANAINEN et al., 2001; HIÉRONIMUS et al., 2002; VITORATOS et al., 2002), concordando com os achados em recém-nascidos de gestações saudáveis (CHRISTOU et al., 2001; TAPANAINEN et al., 2001; MANDERSON et al., 2003). Essa associação também é demonstrada no sangue de gestantes portadoras de DMG (FESTA et al., 1999; KAUTZKY-WILLER et al., 2001; VITORATOS et al., 2001; LIU et al., 2003). Esses achados sugerem que o diabetes materno modifica o metabolismo da leptina fetal através da homeostase alterada da insulina (GROSS et al., 1998) sendo possível especular papel antagônico entre esses dois hormônios (EIDELMAN & SAMUELOFF, 2002; KAUTZKY-WILLER et al., 2001; VITORATOS et al., 2002).

3 OBJETIVOS

Objetivo principal

Verificar a correlação entre o índice ponderal neonatal e a concentração de leptina materna e fetal em gestantes diabéticas e não diabéticas.

Objetivo secundário

Verificar se no grupo de pacientes diabéticas, o uso de insulina interfere na correlação entre o índice ponderal neonatal e a concentração de leptina materna e fetal.

4 PACIENTES E MÉTODOS

4.1 Pacientes

As pacientes deste estudo foram selecionadas entre as parturientes atendidas na Maternidade Otto Cirne do Hospital das Clínicas da UFMG, no período de março de 2001 à fevereiro de 2003.

As pacientes foram divididas em dois grupos de estudo segundo critérios de inclusão e exclusão: grupo controle e grupo de diabéticas, sendo o último dividido quanto ao uso ou não de insulina.

Todas as pacientes incluídas no estudo aceitaram participar desse com concordância verbal e escrita, de acordo com os termos do consentimento informado apresentado no ANEXO 1.

Para a caracterização da amostra foram obtidos os seguintes dados: idade, paridade, estatura materna, peso materno inicial e final, IMC inicial, final e sua variação (Δ IMC), e a idade gestacional, calculada pela data da última menstruação e confirmada por ultra-som

4.1.1 Grupo controle

Composto por 30 gestantes saudáveis, sem intercorrências clínicas, admitidas para cesariana por indicações obstétricas diversas e com idade gestacional maior ou igual a 34 semanas.

4.1.2 Grupo estudo

Composto por 32 gestantes diabéticas, segundo critérios do protocolo da maternidade Otto Cirne do Hospital das Clínicas da UFMG (ANEXO 2). Esse grupo foi posteriormente dividido em dois outros, segundo o uso ou não de insulina. O

grupo em uso de insulina foi constituído de 17 gestantes e o de não usuárias por 15 pacientes.

Foram excluídas as pacientes que apresentavam alguma das seguintes condições: trabalho de parto, síndromes hipertensivas, CIR, uso de esteróides, outras endocrinopatias que não o diabetes, gemelaridade, malformações e alterações cromossômicas.

4.2 Métodos

Trata-se de estudo transversal em que, no momento do parto, foram coletadas amostras de sangue materno e do cordão umbilical para posterior dosagem dos níveis séricos de leptina.

Foi realizada a determinação da concentração sérica de leptina materna, fetal arterial e fetal venosa. Foi calculada a diferença entre as dosagens séricas de leptina obtidas no sangue de cordão (Δ art-ven).

4.2.1 Dosagem da leptina materna e fetal

A dosagem de leptina compreendeu quatro etapas: coleta, processamento, armazenamento e análise laboratorial.

4.2.1.1 Coleta

Uma amostra de cerca de 10 ml de sangue materno foi obtida por punção de veia superficial no membro superior, imediatamente antes do parto, em frasco sem anticoagulante.

O sangue de cordão foi colhido imediatamente após o nascimento. Para este procedimento foi realizada a dupla clampagem do cordão umbilical. Inicialmente foi puncionada uma das artérias e, em seguida, a veia umbilical. Volume aproximado de 3 ml foi colhido em frascos sem anticoagulante.

4.2.1.2 Processamento

As amostras de soro foram obtidas através de centrifugação por um período de 10 minutos, empregando-se a velocidade de 4000 rpm, em centrífuga refrigerada a quatro graus centígrados.

A seguir o soro foi pipetado com ponteiros descartáveis, em alíquotas de aproximadamente 1,0 ml, em dois tubos de polietileno, tipo *Eppendorf*[®] com capacidade para 2,0 ml, pré-identificados como materno, fetal arterial e fetal venoso.

4.2.1.3 Armazenamento

O material devidamente identificado foi armazenado em *container* de nitrogênio líquido no laboratório do Centro de Medicina Fetal da UFMG e posteriormente transportado em gelo seco, acondicionado em caixa de isopor lacrada, para o setor de endocrinologia do Laboratório Hermes Pardini onde foi devidamente estocado em *freezer* a -80 graus centígrados até a realização da análise laboratorial.

4.2.1.4 Análise laboratorial

A dosagem das concentrações de leptina foi realizada através de radioimunoensaio convencional (RIA), utilizando-se o *Human Leptin RIA kit* – catálogo # HL-81K, fabricado por *Linco Research, Inc.*, com sensibilidade de 0,5 ng/ml e coeficiente médio de variação inter e intra-ensaio de 4,50% e 4,98%, respectivamente. O volume da amostra biológica empregado para a dosagem foi de 100 µl.

4.2.3 Cálculo do índice ponderal

Os recém-nascidos foram avaliados quanto ao sexo, peso e estatura. O peso foi aferido, ainda no bloco obstétrico em balança digital marca FILIZOLA[®], com precisão de 5 g. A estatura, em centímetros, foi obtida no primeiro exame realizado pelo pediatra nas primeiras quatro horas de vida.

Utilizando estes dados foi calculado o índice ponderal pela seguinte fórmula:

$$IP = \frac{\text{Peso}}{(\text{Estatura})^3} \times 100$$

4.2.4 Análise estatística

A análise dos dados foi executada empregando-se o programa *SAS INSTITUTE INC*® versão 5 de 1985.

As medidas descritivas são apresentadas em porcentagens e tabelas com a média, mínimo, máximo e desvio padrão (DP). O valor de **n** refere-se ao tamanho da amostra avaliada.

Com o objetivo de comparar os grupos quanto ao sexo utilizou-se o teste Qui-quadrado.

As comparações entre os três grupos em relação as variáveis idade, altura, peso, IMC, variação do IMC, peso do recém-nascido e índice ponderal foram realizadas utilizando-se a técnica de Análise de Variância de um fator, cuja análise compara as médias das variáveis encontrados em cada grupo. Nos casos em que a análise indicou a existência de alguma diferença significativa ($p < 0,05$) entre os 3 grupos, realizou-se as comparações múltiplas de médias segundo o teste LSD (*Least Significance Difference*) para determinar onde existem as diferenças.

Para a análise das variáveis, número de gestações, número de partos, idade gestacional, altura do recém-nascido e dosagem de leptina, a comparação entre os grupos foi realizada utilizando-se o teste Kruskal-Wallis.

Na avaliação da correlação entre índice ponderal e dosagem de leptina, utilizou-se a correlação de Pearson (r), onde:

- $r > 0$: indica relação direta, ou seja, um aumento em X é acompanhado por um aumento em Y,
- $r < 0$: indica relação indireta, ou seja, um aumento em X é acompanhado por um decréscimo em Y.

Um alto valor de r próximo de 1 (negativo ou positivo) representa uma forte relação linear, enquanto que um valor próximo de zero mostra que a associação linear é fraca.

Todos os resultados foram considerados significativos para uma probabilidade de significância inferior a 5% ($p < 0,05$), apresentando portanto, pelo menos 95% de confiança nas conclusões apresentadas.

5 RESULTADOS

Inicialmente foram estudados dois grupos: o controle e o de diabéticas, sendo o segundo posteriormente subdividido dois subgrupos: usuárias ou não de insulina.

Houve diferença significativa quanto à idade entre o grupo controle e o de diabéticas, o primeiro apresentando idades inferiores. No grupo controle a variação foi de 16 a 36 anos, com média de 27 anos e desvio-padrão de 6,2 anos. Entre as diabéticas variou de 18 a 42 anos, com média de 31,5 anos e desvio-padrão de 6,6 anos (TAB. 8). Ao analisar os subgrupos observa-se que as não usuárias de insulina são as responsáveis por essa diferença, apresentando variação de 19 a 42 anos, com média de 30,8 anos e desvio-padrão de 6,5 anos (TAB. 1).

Não foram constatadas diferenças significativas entre os grupos estudados no que diz respeito ao número de gestações e partos (TAB. 1).

Em relação ao peso materno inicial e final, IMC inicial e final e variação do IMC houve diferença entre os grupos controle e diabéticas (TAB. 9). Para essas medidas observou-se similaridade entre as usuárias e não usuárias de insulina, que apresentaram valores significativamente superiores aos observados no grupo controle, exceto pela variação do IMC, que se manteve semelhante entre os três grupos. Não foi encontrada diferença significativa grupos quanto à estatura materna (TAB. 2).

TABELA 1

Análise descritiva das pacientes quanto à idade, número de gestações e número de partos nos grupos estudo e controle

Variável	Grupo	Medidas descritivas					P
		Mínimo	Máximo	Mediana	Média	DP	
Idade	G1	18,0	42,0	33,0	32,3	6,8	0,023
	G2	19,0	42,0	31,0	30,8	6,5	G1 > G3
	G3	16,0	36,0	28,5	27,0	6,2	
Nº de Gestações	G1	1,0	90,0	2,0	2,5	2,2	0,851
	G2	1,0	6,0	2,0	2,0	1,3	G1 = G2 = G3
	G3	1,0	5,0	2,0	2,1	1,1	
Nº de Partos	G1	0,0	8,0	1,0	1,5	2,1	0,846
	G2	0,0	4,0	1,0	0,9	1,1	G1 = G2 = G3
	G3	0,0	4,0	1,0	1,0	1,1	

Nota: a probabilidade de significância refere-se ao teste t de Student para amostras independentes para idade

a probabilidade de significância refere-se ao teste Kruskal-Wallis para nº de gestação e partos

Legenda: G1 → diabéticas sem insulina; G2 → diabéticas com insulina;
G3 → controle

TABELA 2
Análise descritiva das pacientes quanto à estatura, peso e IMC materno nos grupos estudo e controle

Variável	Grupo	Medidas descritivas					P
		Mínimo	Máximo	Mediana	Média	DP	
Estatura	G1	1,5	1,7	1,6	1,6	0,1	0,641
	G2	1,5	1,7	1,6	1,6	0,0	G1 = G2 = G3
	G3	1,5	1,8	1,6	1,6	0,1	
Peso Inicial	G1	52,0	131,0	74,8	75,9	20,0	< 0,001
	G2	57,0	101,0	77,0	79,2	14,1	(G1 = G2) > G3
	G3	44,0	90,0	58,5	59,9	10,4	
Peso Final	G1	56,0	130,8	85,0	85,5	19,1	< 0,001
	G2	70,6	115,0	87,6	89,5	13,3	(G1 = G2) > G3
	G3	50,5	94,9	72,7	72,8	10,1	
IMC Inicial	G1	22,0	46,0	29,6	28,9	6,2	< 0,001
	G2	22,3	37,6	30,2	30,2	5,1	(G1 = G2) > G3
	G3	17,2	31,6	22,9	23,4	4,0	
IMC Final	G1	23,5	45,8	32,7	32,3	6,1	0,001
	G2	26,6	43,5	34,9	34,1	4,8	(G1 = G2) > G3
	G3	20,3	35,9	29,1	28,4	4,2	
Δ IMC	G1	-0,1	8,8	3,2	3,6	2,8	0,096
	G2	0,0	7,2	4,1	3,9	2,1	G1 = G2 = G3
	G3	1,5	10,8	5,0	5,1	2,2	

Nota: a probabilidade de significância refere-se à análise de variância

Legenda: G1 → diabéticas sem insulina; G2 → diabéticas com insulina;
 G3 → controle

O grupo controle apresentou idade gestacional significativamente inferior comparado às pacientes diabéticas (TAB. 10). As últimas apresentam média de idade semelhante entre as usuárias ou não de insulina, como pode ser observado na TAB. 3.

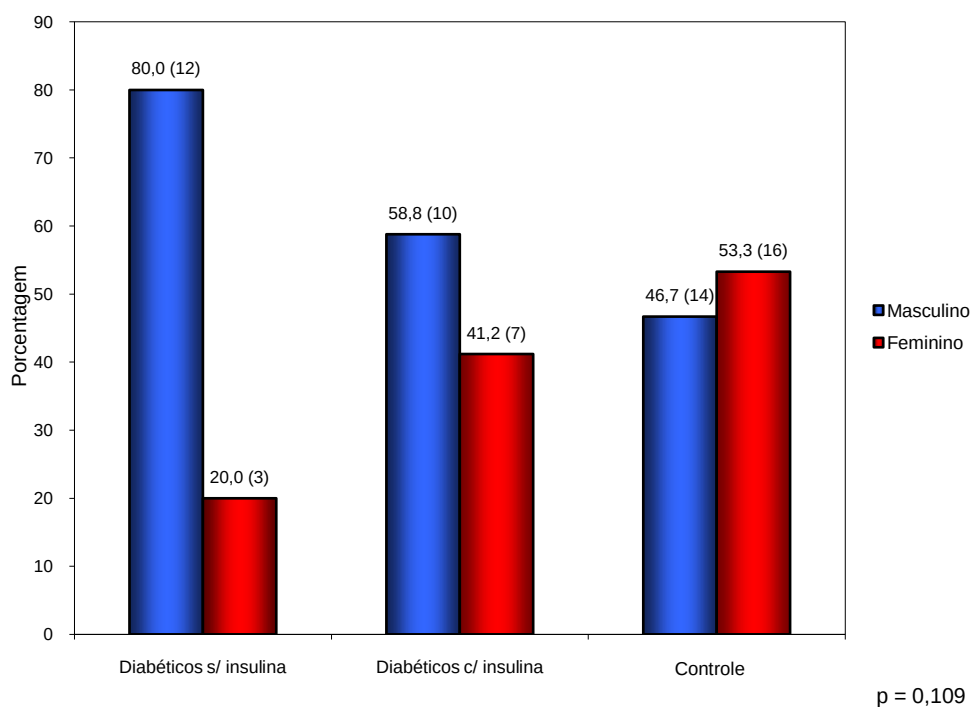
TABELA 3
Análise descritiva das pacientes quanto à idade gestacional nos grupos estudo e controle

Grupo	Medidas descritivas					P
	Mínimo	Máximo	Mediana	Média	DP	
G1	35,0	39,0	38,0	37,9	1,1	0,028 (G1 = G2) < G3
G2	36,0	40,0	38,0	37,6	1,1	
G3	34,0	41,0	39,0	38,4	1,5	

Nota: a probabilidade de significância refere-se ao teste Kruskal-Wallis

Legenda: G1 → diabéticas sem insulina; G2 → diabéticas com insulina;
 G3 → controle

Quanto ao sexo do recém-nascido não houve diferença significativa entre os grupos, como mostra o GRAF. 1.



Nota: a probabilidade de significância refere-se ao teste Qui-quadrado

GRÁFICO 1 - Caracterização das pacientes quanto ao sexo do recém- nascido nos grupos estudo e controle

Foi verificada diferença significativa entre os grupos quanto ao índice ponderal, sendo este mais elevado entre os RN das diabéticas, independente do uso de insulina. O peso e a estatura dos recém-nascidos foram semelhantes entre os grupos (TAB. 4).

TABELA 4

Análise descritiva das pacientes quanto ao peso, estatura e índice ponderal do recém nascido nos grupos estudo e controle

Variável	Grupo	Medidas descritivas					P
		Mínimo	Máximo	Mediana	Média	DP	
Peso	G1	2940,0	4220,0	3500,0	3529,3	382,5	0,107
	G2	2800,0	4400,0	3200,0	3371,5	488,2	G1 = G2 = G3
	G3	1569,0	4350,0	3260,0	3158,8	664,7	
Estatura	G1	48,0	52,0	50,0	49,7	1,3	0,900
	G2	45,0	53,0	50,0	49,8	2,2	G1 = G2 = G3
	G3	41,0	55,0	50,0	49,4	3,4	
Índice Ponderal	G1	2,7	3,4	2,8	2,9	0,2	< 0,001 (G1 = G2) > G3
	G2	2,4	3,3	2,7	2,7	0,2	
	G3	2,3	2,8	2,6	2,6	0,2	

Nota: a probabilidade de significância refere-se à análise de variância para peso e índice ponderal

a probabilidade de significância refere-se ao teste Kruskal-Wallis para altura

Legenda: G1 → diabéticas sem insulina; G2 → diabéticas com insulina;

G3 → controle

No que diz respeito à concentração de leptina (TAB. 5), os resultados mostraram similaridades entre os grupos tanto para leptinemia materna, quanto para a fetal (arterial e venosa), e para a diferença arterial e venosa (Δ art-ven).

TABELA 5
Análise descritiva das pacientes quanto a concentração de leptina nos grupos estudo e controle

Leptina	Grupo	Medidas descritivas					P
		Mínimo	Máximo	Mediana	Média	DP	
Materna	G1	2,5	57,6	16,4	20,1	15,6	0,564
	G2	2,4	53,9	21,0	23,1	13,0	G1 = G2 = G3
	G3	5,6	50,5	17,7	21,1	12,4	
Fetal Arterial	G1	2,8	34,2	9,5	12,0	9,2	0,226
	G2	1,2	38,2	8,2	13,4	11,3	G1 = G2 = G3
	G3	0,8	42,6	6,1	8,4	8,5	
Fetal Venoso	G1	3,1	43,5	10,9	14,6	12,6	0,174
	G2	1,3	43,0	9,0	14,4	11,9	G1 = G2 = G3
	G3	1,2	40,5	6,7	9,0	8,4	
Δ art-ven	G1	-22,2	1,9	-0,2	-2,7	6,9	0,646
	G2	-5,8	2,3	-0,7	-1,0	1,9	G1 = G2 = G3
	G3	-16,3	10,7	-0,4	-0,6	3,8	

Nota: a probabilidade de significância refere-se ao teste Kruskal-Wallis

Legenda: G1 → diabéticas sem insulina; G2 → diabéticas com insulina;
 G3 → controle

Foi avaliada a relação entre o índice ponderal e a concentração de leptina materna, fetal arterial, fetal venosa e Δ art-ven e constatada correlação significativa positiva entre IP e concentração de leptina no sangue de cordão, tanto arterial quanto venoso (GRAF. 2 e GRAF. 3). Observou-se ainda tendência a correlação positiva entre IP e concentração de leptina materna (TAB. 6).

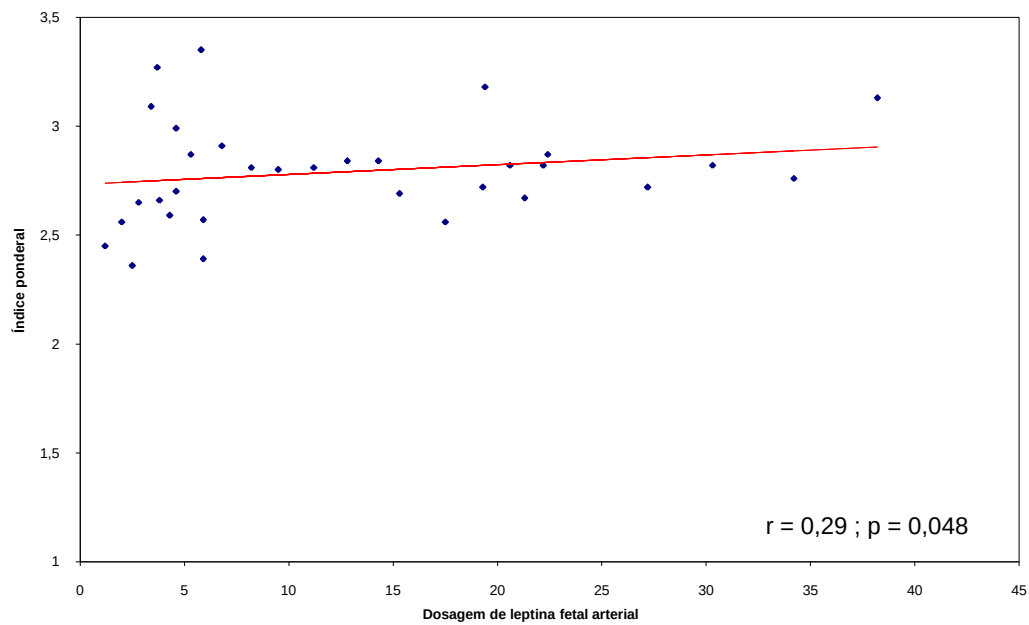


GRÁFICO 2 - Avaliação da relação entre o índice ponderal e a concentração de leptina fetal arterial no grupo de diabéticas

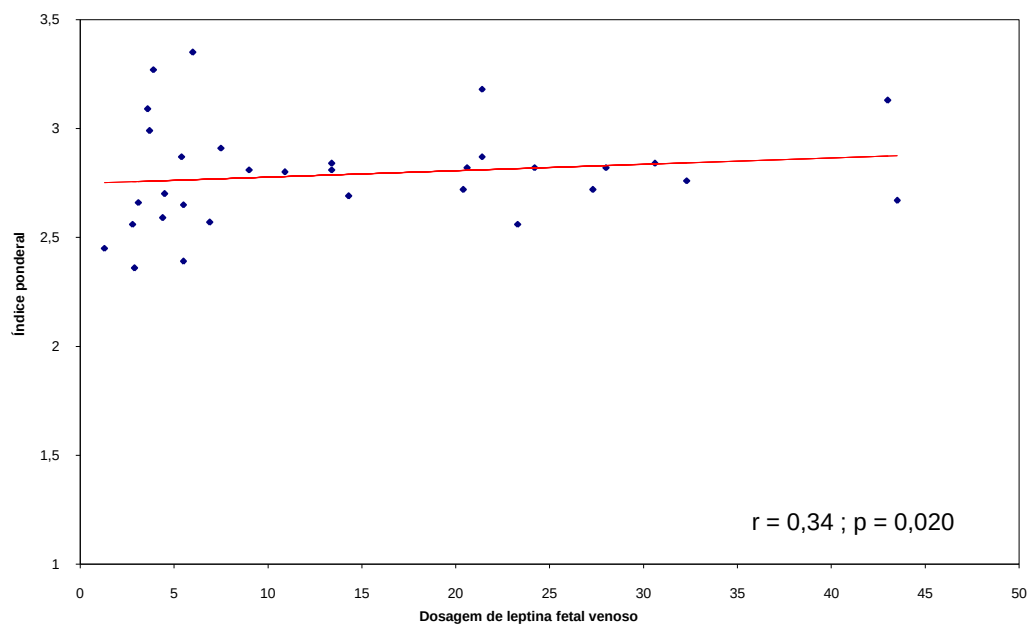


GRÁFICO 3 - Avaliação da relação entre o índice ponderal e a concentração de leptina fetal venoso no grupo de diabéticas

TABELA 6

Avaliação da relação entre índice ponderal e concentração de leptina nos grupos estudo e controle

Grupo	IP x Lep. materna		IP x Lep. Fet. arterial		IP x Lep. Fet. Venosa		IP x Δ art-ven	
	r	p	R	p	R	P	r	P
Controle	-0,02	0,902	0,02	0,919	0,11	0,572	-0,18	0,337
Diabéticas	0,27	0,070	0,29	0,048	0,34	0,020	-0,17	0,248

Quando avaliados os subgrupos diabéticas usuárias ou não de insulina, a correlação entre o IP e a concentração de leptina de sangue de cordão não se manteve, apresentando apenas tendência a esta correlação entre as usuárias de insulina. Neste mesmo grupo foi constatada correlação significativa positiva entre a dosagem de leptina materna e IP (GRAF. 4 e TAB. 7).

TABELA 7

Avaliação da relação entre índice ponderal e concentração de leptina no grupo de diabéticas, considerando-se o uso de insulina

Grupo	IP x Lep. Maternal		IP x Lep. Fet. arterial		IP x Lep. Fet. Venosa		IP x Δ art-ven	
	r	P	R	p	r	P	r	P
Diabéticas sem insulina	-0,39	0,153	-0,12	0,663	-0,20	0,466	0,21	0,456
Diabéticas com insulina	0,62	0,008	0,44	0,077	0,44	0,078	-0,15	0,562

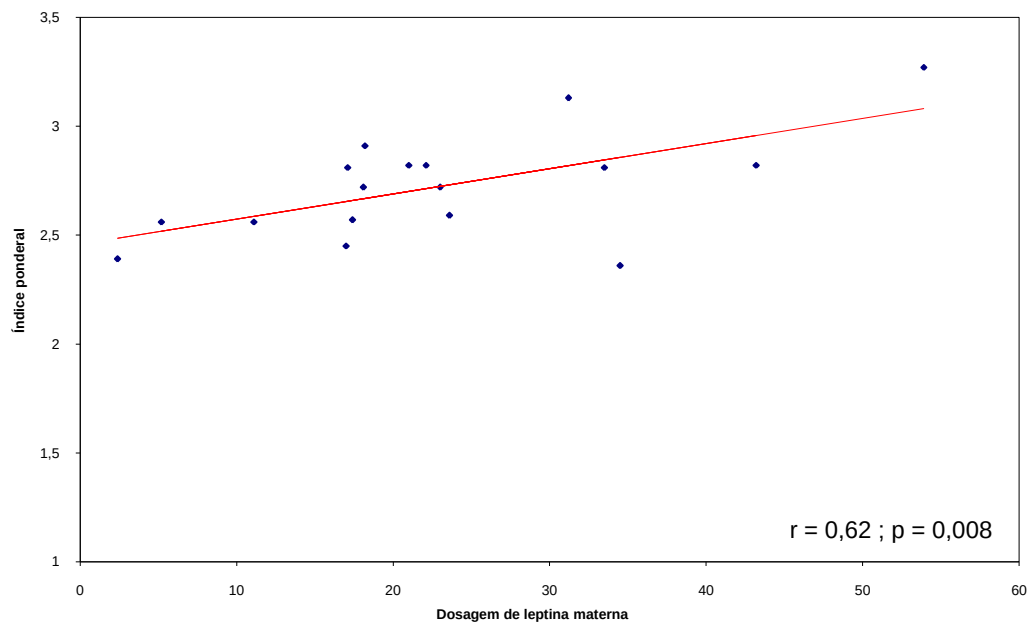


GRÁFICO 4 - Avaliação da relação entre o índice ponderal e a concentração de leptina materna no grupo de diabéticas em uso de insulina

6 COMENTÁRIOS

O crescimento fetal excessivo associa-se a morbidade perinatal aumentada, é cerca de três vezes mais freqüente em gestações complicadas pelo diabetes, e é responsável por conseqüências a curto e longo prazo. A morte intra-uterina e neonatal, o tocotraumatismo, e a ocorrência de SAR têm diminuído sua freqüência após a instituição de medidas de controle glicêmico rigoroso para as pacientes portadoras de qualquer forma de diabetes. Assim, essas crianças têm sobrevivido, permitindo que se avaliem as conseqüências da macrosomia em longo prazo. Demonstrou-se que desenvolvem obesidade, diabetes tipo 2 e hipertensão com maior freqüência que aquelas nascidas com peso adequado, causando impacto em saúde pública. As mulheres nascidas sob esta condição são propensas a desenvolver, durante a sua gestação, diabetes tipo 2, pré-eclâmpsia e macrosomia fetal, perpetuando este ciclo. Dessa forma, conhecer os mecanismos que possam causar, direta ou indiretamente, crescimento fetal excessivo pode permitir que se desenvolvam ações para preveni-lo minimizando seus efeitos.

O processo metabólico responsável pela fisiopatologia dos fetos de mães diabéticas tem sido objeto de vários estudos e vem sendo continuamente elucidado. Inclui hiperglicemia materna, hiperglicemia e hiperinsulinemia fetal, e aumento dos níveis maternos, fetais e placentários de fatores de crescimento insulina-símile e leptina.

As características antropométricas dos fetos de mães diabéticas são peculiares: o crescimento dos ossos longos e do crânio mantém-se inalterado enquanto o acúmulo excessivo de gordura ocorre principalmente no tronco, aumentando a cintura escapular, levando ao alargamento dos ombros. Este fenótipo típico pode ser observado independente do peso. Os critérios mais comumente empregados para definir a macrosomia que levam em consideração apenas o peso, ou peso e idade gestacional, parecem falhos para identificar este grupo de pacientes, permitindo que não recebam acompanhamento adequado no período neonatal e transcorrer da infância, somando fatores ambientais e assistenciais à sua propensão para desenvolvimento de eventos adversos no período perinatal, na adolescência e na vida adulta.

O índice ponderal proposto por MILLER e HASSANEIN (1971) à semelhança com o índice de massa corporal largamente utilizado entre adultos, minimiza a deficiência na caracterização de desvios do crescimento. Atualmente vários autores o têm utilizado em pesquisas, tendo sido desenvolvida classificação de subtipos de macrossomia baseado no IP (LEPERCQ et al., 1999). Esses autores acreditam que os recém-nascidos macrossômicos provenientes de ambiente metabólico intra-uterino desfavorável, como no diabetes, apresentem características de assimetria reveladas por IP acima do percentil 97, enquanto os chamados “constitucionais”, onde o potencial genético parece ser o principal responsável pelo crescimento excessivo, apresentam medidas equilibradas, refletidas por IP acima do percentil 90, mas limitado ao 97º percentil 97 (LEPERC et al., 1999).

A literatura já conta com trabalhos que estudam a associação entre IP e concentração de leptina materna e fetal. Entretanto, têm sido avaliadas gestações saudáveis sem intercorrências, ou recém-nascidos classificados de grande para a idade gestacional, nem sempre categorizados quanto a ocorrência de diabetes.

A concentração de leptina é mais elevada em pacientes portadoras de diabetes e se relaciona a hiperinsulinemia, sugerindo a presença de alguma forma de resistência à leptina neste grupo de pacientes.

Este trabalho foi desenvolvido buscando ampliar o conhecimento da fisiologia fetal, e teve como objetivo principal, verificar a existência de correlação entre o índice ponderal e a concentração materna e fetal de leptina, em gestações saudáveis e nas complicadas pelo diabetes. Secundariamente foi avaliada se a necessidade do uso de insulina pela gestante interfere nesta correlação.

Inicialmente foram estudados dois grupos: o controle e o de diabéticas, sendo o segundo posteriormente subdividido em usuárias ou não de insulina. Foram excluídas as pacientes que apresentavam condições capazes de alterar os níveis circulantes de leptina: trabalho de parto, síndromes hipertensivas, CIR, uso de esteróides, outras endocrinopatias que não o diabetes. Também foram excluídos gravidez múltipla, fetos portadores de malformações e alterações cromossômicas.

Foram selecionadas pacientes submetidas à cesariana eletiva, sem trabalho de parto, pois os níveis de leptina no cordão umbilical são influenciados pelo tipo de parto, sendo mais altos em recém-nascidos de parto via vaginal quando comparados àqueles nascidos pela via abdominal. Essa diferença deve-se, provavelmente, à liberação de leptina placentária em resposta aos elevados níveis de cortisol e/ou hipóxia causada pelas contrações durante o trabalho de parto (YOSHIMITSU et al., 2000; BAJORIA et al., 2002).

Da mesma forma foram excluídas pacientes com quadro de pré-eclâmsia, pois a hipóxia associada à elevação das citocinas pró-inflamatórias circulantes, proporciona incremento à produção placentária de leptina levando ao aumento da concentração materna, independente do IMC da gestante (MISE et al., 1998; McCARTHY et al., 1999).

O uso de corticosteróides foi fator de exclusão pelo seu efeito estimulante na produção de leptina, podendo elevar três vezes os seus níveis circulantes (SHEKHAWAT et al., 1998; LINNEMANN et al., 2001).

Os fetos com CIR foram excluídos, pois apresentam níveis alterados de leptina no sangue de cordão, podendo encontrar-se diminuídos ou elevados. As suas baixas concentrações foram relacionadas à massa adiposa fetal diminuída (LEPERCQ et al., 2001). Nos casos de CIR onde coexistem hipóxia aguda e crônica encontrou-se aumento na sua concentração, atribuído à hipóxia grave e ao estresse fetal (CETIN et al., 2000).

As comparações das médias das variáveis encontrados em cada grupo de gestantes para os fatores idade, estatura, peso, IMC e variação do IMC foram realizadas utilizando-se a técnica de Análise de Variância. Nos casos em que a análise indicou a existência de alguma diferença significativa ($p < 0,05$) entre os três grupos, realizou-se as comparações múltiplas de médias segundo o teste LSD (*Least Significance Difference*), para determinar onde essa ocorre. Para a análise do número de gestações e de partos a comparação entre os grupos foi realizada utilizando-se o teste Kruskal-Wallis.

Não foram constatadas diferenças significativas entre os grupos de estudo no que diz respeito ao número de gestações e partos (TAB.1), variação do IMC e estatura materna (TAB.2).

Houve diferença significativa quanto à idade entre o grupo controle e o de diabéticas, o primeiro apresentando idades inferiores (TAB 1). Este achado era esperado, pois a incidência de diabetes eleva-se progressivamente com a idade (HARRIS et al., 1998). Ao subdividir este grupo observa-se que as não usuárias de insulina são as responsáveis por essa diferença, tratando-se, provavelmente, dos casos de DMG controladas por dieta, cuja incidência vem aumentando entre pacientes mais jovens, devido à obesidade, mudanças nos hábitos alimentares e no estilo de vida (*CENTERS FOR DISEASES CONTROL AND PREVENTION*, 1998).

Em relação ao peso materno inicial e final, IMC inicial e final e variação do IMC houve diferença entre os grupos controle e diabéticas (TAB. 9). Para estas medidas observou-se similaridade entre as usuárias e não usuárias de insulina, que apresentaram resultados significativamente superiores aos observados no grupo controle, exceto para a variação do IMC (TAB 2). A obesidade é mais freqüente entre diabéticas, sendo considerada fator de risco para desenvolvimento de DM2 e DMG. Como a estatura não variou entre os grupos, o peso é o responsável pelo maior IMC encontrado no grupo estudo. A ausência de diferença na variação do IMC entre os três grupos pode ser atribuída às orientações e ao cuidado dietético rigoroso durante o pré-natal das pacientes portadoras de diabetes.

Utilizando-se o teste Kruskal-Wallis verificou-se que o grupo controle apresentou idade gestacional significativamente inferior quando comparado ao grupo estudo. As gestantes diabéticas apresentam padrão de concentração sérica de leptina semelhante ao já descrito para as gestações não complicadas, ocorrendo elevação no transcorrer do segundo trimestre seguido de platô no último trimestre e queda importante após o parto (STOCK e BREMME, 1998; LEWANDOWSKI et al., 1999; LAUSZUS et al., 2001). Nível crescente no terceiro trimestre gestacional entre as pacientes do grupo DM1 foi encontrado por LAUSZUS et al., (2001) e CETIN et al. (2000). No presente estudo não foram incluídas pacientes com idade gestacional

inferior a 34 semanas e não foi evidenciada diferença significativa quanto a esta variável entre os dois subgrupos de diabéticas (TAB.3).

Quanto aos recém-nascidos, não houve diferença significativa entre os grupos no que diz respeito ao sexo (GRAF. 1), peso e estatura (TAB. 4). Entretanto, foi verificada diferença significativa na análise do índice ponderal, sendo este mais elevado entre os RN das diabéticas, independentemente do uso de insulina (TAB 4). Entre as gestantes diabéticas a obesidade fetal é cerca de três vezes mais freqüente (COMBS et al., 1992), sendo a massa adiposa responsável por 25 a 30% do seu peso corporal total (LAPILLONNE et al., 1997) e relacionada às condições intra-uterinas (LEPERCQ et al., 2000). Uma vez que a estatura e o peso foram semelhantes entre os RN dos grupos controle e estudo, a diferença identificada no índice ponderal pode ser atribuída a sua maior porcentagem de massa adiposa, validando o IP como marcador desta última, como proposto por LEPERC et al. (2000).

No que diz respeito à leptina (TAB. 5), os resultados não demonstraram diferença significativa quando comparados os três grupos em relação a sua concentração na mãe, no sangue de cordão arterial e venoso e Δ art-ven).

A literatura não é unânime quanto ao comportamento da leptina materna. Estudos demonstram que no DMG, a sua concentração é mais elevada do que em controles saudáveis (VITORATOS et al., 2001; KAUTZKY-WILLER et al., 2001; CSEH et al., 2002; LIU et al., 2003), e que a hiperleptinemia na gestação inicial relaciona-se ao desenvolvimento do DMG e à sua gravidade (QIU et al., 2004). LEWANDOWSKI et al. (1999), encontraram valores de leptina similares entre gestantes normais e diabéticas (DM1 e DMG). Esses achados não foram confirmados por KAUTZKY-WILLER et al. (2001), que encontraram concentração média de leptina mais elevada entre as pacientes portadoras de DMG do que naquelas com DM1. Contraditoriamente, FESTA et al. (1999) encontraram hipoleptinemia entre gestantes portadoras de DMG leve, quando comparadas a controles com tolerância normal à glicose.

O presente estudo não encontrou diferença significativa entre a concentração de

leptina materna nos grupos avaliados, concordando com LEWANDOWSKI et al. (1999). Porém a classificação do diabetes não foi levada em conta para composição dos grupos, e sim o uso de insulina. O DMG desenvolve-se com mais frequência em mulheres com risco para obesidade, DM2 e doenças cardiovasculares, representando uma face da síndrome de resistência à insulina (KAUTZKY-WILLER et al., 2001). Gestantes com DMG que necessitam usar insulina exógena para controle da glicemia representem um grupo onde essa resistência é mais pronunciada. Por conseguinte, era esperado o encontro de leptinemia elevada no grupo de usuárias de insulina.

Vários autores documentaram concentração mais elevada de leptina em sangue de cordão de recém-nascidos de mães diabéticas quando comparados a recém-nascidos de gestações saudáveis (GROSS et al., 1998; LEPERCQ et al., 1998; MAFFEI et al., 1998; PERSSON et al., 1998; SHEKHAWAT et al., 1998; CETIN et al., 2000; LEA et al., 2000; TAPANAINEN et al., 2001; HIÉRONIMUS et al., 2002; OKEREKE et al., 2002; VITORATOS et al., 2002; MANDERSON et al., 2003). O presente estudo não confirmou esses achados concordando com trabalho prospectivo realizado por NG et al. (2000). Cabe ressaltar que as médias mais elevadas de leptina ocorreram no grupo de diabéticas, onde os valores de p foram marginalmente significativos (TAB 11). A ampliação do tamanho da amostra pode ser útil para esclarecimento desses achados.

A leptina é considerada marcador de massa adiposa em fetos e RN (BAJORIA et al., 2002). Inúmeros estudos têm demonstrado a presença de correlação positiva entre a concentração de leptina fetal e características antropométricas do recém-nascido em gestações normais e complicadas pelo diabetes, independente da sua classificação. O peso ao nascimento tem sido a variável mais estudada (GROSS et al., 1998; MAFFEI et al., 1998; PERSSON et al., 1998; CETIN et al., 2000; NG et al., 2000; TAPANAINEN et al., 2001; OKEREKE et al., 2002; VITORATOS et al., 2002; MANDERSON et al., 2003). Todavia, as características do crescimento e a constituição física dos RN de diabéticas são peculiares, tornando o peso um marcador pouco fidedigno para sua avaliação global. O IP tem sido proposto como alternativa viável para predição da composição corporal do RN, uma vez que os métodos biofísicos para esta avaliação são de alto custo e requerem habilidade

técnica para a sua realização (OKEREKE, et al, 2002).

Acreditar na existência de correlação positiva entre o IP e a concentração de leptina fetal em gestantes diabéticas originou este trabalho. A percepção da delicada interação entre leptina e insulina, e as inúmeras incertezas quanto à sua participação na fisiopatologia do diabetes, motivaram a subdivisão das pacientes quanto ao uso da última, para observar se existe comportamento diferenciado entre os dois grupos.

Os resultados apresentados na TAB. 6 revelam a presença de correlação significativa positiva entre o IP e a concentração de leptina no sangue de cordão, arterial e venoso, nas pacientes diabéticas. Quando subdivididas segundo o uso de insulina, esta correlação não se manteve apesar dos valores de p encontrarem-se próximos ao nível de significância. Não houve correlação entre IP e leptina entre as gestantes saudáveis (TAB. 7).

A leptinemia materna não mostrou associação com dados antropométricos do recém-nascido em gestações complicadas pelo diabetes, na maior parte dos trabalhos (GROSS et al., 1998; PERSSON et al., 1998; MANDERSON et al., 2003), exceto no estudo de CSEH et al. (2002) onde os autores encontraram correlação negativa com o peso ao nascimento, estatura e circunferência cefálica do RN. No presente estudo, inicialmente, quando foram comparados os grupos controle e diabéticas não se observou a existência de correlação entre os mesmos. Entretanto, novamente desperta atenção o valor de p encontrado para o grupo de diabéticas, contíguo àqueles de significância. Ao separarem-se os grupos verifica-se a presença de correlação positiva entre IP e concentração de leptina materna nas gestantes usuárias de insulina (TAB. 7).

Esses achados sugerem que o diabetes materno modifica o metabolismo da leptina fetal através da homeostase alterada da insulina concordando com GROSS et al. (1998) A associação entre leptina e insulina no sangue de cordão foi demonstrada em recém-nascidos de pacientes portadoras de DM1 e DMG (MAFFEI et al., 1998; NG et al., 2000; TAPANAINEN et al., 2001; HIÉRONIMUS et al., 2002; VITORATOS et al., 2002), assim como naqueles de gestações saudáveis. (CHRISTOU et al.,

2001; TAPANAINEM et al., 2001; MANDERSON et al., 2003). Essa associação também é demonstrada no sangue materno de gestantes portadoras de DMG (FESTA et al., 1999; KAUTZKY-WILLER et al., 2001; VITORATOS et al., 2001; LIU et al., 2003). Diante disso, novos estudos considerando a concentração de insulina materna e fetal, poderiam ser realizados para melhor compreensão dessa provável interação leptina-insulina.

7 CONCLUSÕES

Há correlação positiva entre o IP neonatal e concentração de leptina materna em gestantes diabéticas usuárias de insulina.

Há correlação positiva entre o índice ponderal neonatal e a concentração de leptina fetal, arterial e venosa, em gestantes diabéticas. A necessidade do uso de insulina pode ter interferido nesta correlação.

8 REFERÊNCIAS

AGARWAL, S.K.; VOGEL, K.; WEITSMAN, R. Leptin antagonizes the insulin-like growth factor-1 augmentation of steroidogenesis in granulosa and theca cells of the human ovary. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 84, p. 1072-1076, 1999.

AHMED, M.L.; ONG, K.K.L.; MORREL, D.J. Longitudinal study of leptin concentrations during puberty: sex differences and relationships to changes in body composition. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 84, p. 899-905.

AMERICAN COLLEGE OF OBSTETRICIANS AND GYNECOLOGISTS: GESTATIONAL DIABETES. ACOG PRACTICE BULLETIN. **Obstetrics and Gynecology**, New York, v. 98, n 30, p. 525, 2001

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION: REPORT OF THE EXPERT COMMITTEE ON THE DIAGNOSIS AND CLASSIFICATION OF DIABETES MELLITUS. **Diabetes Care**, New York, v. 25, Suppl 1 S5, 2002.

ANIM-NYAME, N.; SOORANNA, S.R.; STEER, P.J.; JOHNSON, M.R. Longitudinal analysis of maternal plasma leptin concentrations during normal pregnancy and pré-eclampsia. **Human Reproduction**, Oxford, v. 15, p. 2033-2036, 2000.

ASHWORTH, C.J.; HOGGARD, N.; THOMAS, L. Placental leptin. **Reviews of Reproduction**, Colchester, v. 5, p.18-24, 2000.

ATANASOVA, P.; POPOVA, L. Leptin expression during the differentiation of subcutaneous adipose cells of human embryos in situ. **Cells Tissues Organs**, Basel, v. 166, p. 15-19, 2000.

ATKINSON, M.A.; MACLAREN, N.K. The pathogenesis of insulin dependent diabetes. **New England Journal Medicine**, Boston, v. 131, p. 1428 – 1432, 1994.

BAJORIA, R.; SOORANNA, S.R.; WARD, B.S.; CHATTERJEE, R. Prospective function of placental leptin at maternal-fetal interface. **Placenta**, London, v. 23, p. 103-115, 2002.

BAKER, J.; LIU, J.P.; ROBERTSON, E.J.; EFTSTRATIADIS, A. Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth. **Cell**, Cambridge, v. 75, p. 73-82, 1993.

BIRKENMEIER, G.; KAMPFER, I.; KRATZSCH, J.; SCHELLERBERGER, W. Human leptin forms complexes with alpha 2-macroglobulin which are recognized by the alpha 2-macroglobulin receptor/low density lipoprotein receptor-related protein. **European journal of endocrinology**, Oslo, v. 139, p. 224-230, 1998.

BJORBAEK, C.; ELMQUIST, J.K.; MICHL, P. Expression of leptin receptor isoforms in rat brain microvessels. **Endocrinology**, Springfield, v. 139, p. 3485-3491, 1998.

BODEN, G.; CHEN, X.; KOLACZYNSKI, J.W. Effects of prolonged hyperinsulinaemia on serum leptin in normal human subjects. **The Journal of Clinical Investigation**, New Haven, v. 100, p. 1107-1113, 1997.

BORDNER, J.; EBENBIEHLER, C.F.; WOLF, H.J. Leptin receptor in human term placenta: in situ hybridization and immunohistochemical localization. **Placenta**, London, v. 20, p. 677-682, 1999.

BUTTE, N.F.; HOPKINSON, J.M.; NICOLSON, M.A. Leptin in human reproduction: serum leptin levels in pregnant and lactating women. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 82, n. 2, p. 585-589, Feb., 1997.

CARLSON, M.G.; CAMPBELL, P. J. Intensive insulin therapy and weight gain in IDDM. **Diabetes**, New York, v. 42, p. 1700-1707, 1993.

CARO, J.F.; SINHÁ, M.K.; KOLACZYNSKI, J.W. Leptin: The tale of na obesity gene. **Diabetes**, New York, v. 45, p. 1455-1462, 1996.

CARPENTER, M. W.; COUSTAN, D.R. Criteria for screening tests for gestational diabetes. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 144, p. 763-769, 1982.

CASTELLUCCI, M.; DE MATTEIS, R.; MEISSER, A. Leptin modulates extracellular matrix molecules and metalloproteinases: possible implications for trophoblast invasion. **Molecular Human Reproduction**, Oxford, v. 6, p. 951-958, 2000.

CASTRO, F.C. **Correlação entre a concentração de leptina no sangue de cordão umbilical (arterial e venoso) e o índice placentário e a concentração sérica de leptina materna** 2002 . 81f. Tese (Doutorado em Ginecologia e Obstetrícia). Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte.

CATALANO, P.M.; TYSBIR, E.D.; ALLEN, S.R. Evaluation of fetal growth by estimation of neonatal body composition. **Obstetrics and Gynecology**, New York, v. 79, p. 46-50, 1992.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION: DIABETES DURING PREGNANCY – UNITED STATES, **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**, v. 47, p. 408-413, 1998.

CETIN, I.; MORPURGO, O.S.; RADAELLI, T. Fetal plasma leptin concentrations: relationship with different intrauterine growth patterns from 19 weeks to term. **Pediatric Research**, Basel, v. 48, p. 646 – 651, 2000.

CHENG, H.; CHARLAT, O.; TARTAGLIA, L.A. Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: Identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. **Cell**, Cambridge, v. 84, p. 491-495, 1996.

CIOFFI, J.A.; VAN BLERKON, J.; ANTEZAK, M. The expression of leptinand its receptor in pre-ovulatory human follicles. **Molecular Human Reproduction**, Oxford, v. 6, p. 467-472, 1997.

CINAZ, P.; SEM, E.; BODECI, A. Plasma leptin levels of large for gestational age and small for gestational age infants. **Acta Paediatrica**, Madrid, v. 88, p. 753-755, 1999.

CHARDONNENS, D.; CAMEO, P.; AUBERT, M. L. Modulation of human cytotrophoblastic leptin secretion by interleukin- α and 17 β -oestradiol and its effect on HCG secretion. **Molecular Human Reproduction**, Oxford, v. 5, p. 1055-1058, 1999.

CHRISTOU, H.; CONNORS, J.M.; ZIOTOPOULOU, M. Cord blood leptin and insulin-like growth factor levels are independent predictors of fetal growth. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 86, p. 935-938, 2001.

CLEMENT, K.; LAHLOU, N.; RUIZ, J. Association of poorly controlled diabetes with low serum leptin in morbid obesity. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, Hampshire, v. 21, p. 556-561, 1997.

COMBS, C.A.; GUNDERSON, E.; KITZMILLER, J. Relationship of fetal macrosomia to maternal postprandial glucose control during pregnancy. **Diabetes Care**, New York, v. 15, p. 1251-1258, 1992

CONOVER, W. J. **Practical Nonparametric Statistics**, New York: John Wiley & Sons, 1980, 493 p.

CONSIDINE, R.V.; SINHA, M.K.; HEIMAN, M.L. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 334, p. 292-295, 1996.

CSEH, K.; BARANYI, K.C.; MELCZER, Z. The pathophysiological influence of leptin and the tumor necrosis factor system on maternal insulin resistance: negative correlation with anthropometric parameters of neonates in gestational diabetes, **Gynecologic Endocrinology**, v. 16, p. 453-460, 2002.

CUMIN, F.; BAUM, H.P.; DE GASPARO, M. Removal of endogenous leptin from the circulation by the kidney. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, Hampshire, v. 231, p. 495-504, 1997.

DE CHIARA, T.M.; EFTSTRATIADIS, A.; ROBERTSON, E.J. A growth-deficiency phenotype in heterozygous mice carrying an insulin-like growth factor II gene disrupted by targeting. **Nature**, London, v. 345, p. 78-80, 1990.

DONAHOO, W.T.; JENSEN, D.R.; YOST, T.J. Isoproterenol and somatostatin decrease plasma leptin in humans: a novel mechanism regulation leptin secretion. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 82, p. 4139-4143, 1997.

DORLANDS. **Illustrated medical dictionary**. 23th ed. Philadelphia: W.B.Saunders, 1994. p. 863.

EBIHARA, K.; OGAWA, Y.; ISSE, N. Identification of the human leptin 5'flanking sequences involved in the trophoblast-specific transcription. **Biochemical and Biophysical Communication**, New York, v. 241, p. 658-663, 1997.

EIDELMAN A.I.; SAMUELOFF, A. The pathophysiology of the fetus of the diabetic mother. **Seminars in Perinatology**, Philadelphia, v. 26, n. 3, p. 232-236, Jun, 2002

ERIKSSON, U. J.; BORG, L.A.; CEDERBERG, J. Pathogenesis of diabetes-induced congenital malformations. **Uppsala Journal of Medical Science**, Uppsala, v. 105, p. 53-59, 2000.

EVERITT. B.S. **The Analysis of Contingency Tables**. London: Chapman and Hall. 1989. 128 p.

FESTA, A.; SHAWNA, N.; KRUGLUGER, W. Relative hypoleptinemia in women with mild gestational diabetes melitus. **Diabetic Medicine**, Chechester, v. 16, n. 8, p. 656-662, Aug., 1999.

FRASER, R.B.; BRUCE, C. Amniotic fluid insulin levels identify the fetus at risk of neonatal hypoglycaemia, **Diabetic Medicine**, Chechester, v. 16, p. 568-573, 1999.

FREINKEL, N. METZGER, B.E. Pregnancy as a tissue culture experience: The critical implications of maternal metabolism for fetal development. In: FREINKEL, N. (ed): Pregnancy Metabolism, Diabetes and the fetus: CIBA Foundation Symposium, 63. Amsterdam, **Excerpta Medica**, 1979.

GAINSFORD, T.; WILSON, T.A.; METCALF, D. Leptin can induce proliferation, differentiation, and functional activation of hematopoietic cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 93, p. 1456-1458, 1996.

GAVRILOVA, O.; BARR, V.; MARCUS-SAMUELS, B.; REITMAN, M. Hyperleptinemia of pregnancy associated with the appearance of a circulating form of the leptin receptor. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 272, p. 30546-30551, 1997.

GEARY, M.; PRINGLE, P.J.; PERSAUD, M. Leptin concentration in maternal serum and cord blood: relationship to maternal anthropometry and fetal growth. **British Journal of Obstetrics and Gynaecology**, Oxford, v. 106, n. 10, p. 1054-1060, Oct., 1999.

GILBERT, W. M.; NESBITT, T.S.; DANIELSEN, B. Associated factors in 1611 cases of brachial plexus injury. **Obstetrics & Gynecology**, New York, v. 93, p. 536-539, 1999.

GIUDICE, L.C.; DE ZEGHER, F.; GARGOSKY, S.E. Insulin-like growth factors and their binding proteins in the term and preterm human fetus and neonate with normal and extremes of intrauterine growth. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 80, p. 1548-1555, 1995.

GOMEZ, L.; CARRACOSA, A.; YESTE, D. Leptin values in placental cord blood of human newborns with normal intrauterine growth after 30-42 weeks of gestation. **Hormone Research**, Basel, v. 51, p. 10-14, 1999.

GONG, D.W.; BI, S.; PRATLEY, R.E. Genomic structure and promoter analysis of the human obese gene. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 271, p. 3971-3974, 1996.

GOWER, B.A.; NOGY, T.R.; GORAN, M.I. Leptin in postmenopausal women: influence of hormone therapy, insulin and fat distribution. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 85, p. 1770-1775, 2000.

GREEN, E.; MAFFEI, M.; BRADEN, B. The human obese ob gene: RNA expression pattern and mapping on the physical cytogenetic, and genetic maps of chromosome 7. **Genome Research**, New York, v. 5, p. 5-12, 1995.

GROSS, G.A.; SOLENBERGER, T.; PHILPOTT, T. Plasma leptin concentrations in newborns of diabetic and nondiabetic mothers. **American Journal of Perinatology**, New York, v. 15, p. 243-247, 1998.

HALAAS, J.L.; GAJIWALA, K.S.; MAFFEI, M. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. **Science**, Washington, v. 269, p. 543-546, 1995.

HARDIE, L.; TRAYHURN, P.; ABRAMOVICH, D.; FOWLWR, P. Circulating leptin in women: a longitudinal study in the menstrual cycle and during pregnancy. **Clinical Endocrinology**, Oxford, v. 47, p. 101-106, 1997.

HARIGAYA, A.; NAGASHIMA, K.; NAKO, Y.; MORIKAWA, A. Relationship between concentration of serum leptin and fetal growth. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 82, p. 3281-3284, 1997.

HARRIS, M. I.; FLEGAL, K. M.; COWIE, C.C. Prevalence of diabetes, impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance in US adults, **Diabetes Care**, New York, v. 21, p. 518-523, 1998.

HASSINK, S.G.; LANCEY, E.; SHESLOW, D.V. Placental leptin: an important new growth factor in intrauterine and neonatal development? **Pediatrics**, Springfield, v. 100, p. 1-6, 1997.

HELLAND, I.B.; RESELAND, J.E.; SAUGSTAD, O.D.; DREVON, C.A. Leptin levels in pregnant women and newborn infants: gender differences and reduction during the neonatal period. **Pediatrics**, Springfield, v. 101, n. 3, p. 465-466, Mar., 1998.

HENSON, M.C. & CASTRACANE, V.D. Leptin in pregnancy. **Biology of Reproduction**, New York, v. 63, p. 1219-1228, 2000.

HENSON, M.C.; SWAN, K.F.; O'NEIL, J.S. Expression of placental leptin and leptin receptor transcripts in early pregnancy and at term. **Obstetrics & Gynecology**, New York, v. 92, n. 6, p. 1020-1028, Dec., 1998.

HIERONIMUS, S.; BASTARD, S.; GILLET, J.Y. Significance of cord-blood leptin in newborns of diabetic mothers, **Diabetes Care**, New York, v.25, p. 1886-1887, n. 10, Oct, 2002.

HIGHMAN, T.J.; FRIEDMAN, J.E.; HUSTOIN, L.P. Longitudinal changes in maternal serum leptin concentrations, body composition, and resting metabolic rate in pregnancy. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St Louis, v. 178, n. 5, p. 1010-1015, May., 1998.

HOEGSBERG, B.; GRUPPUSO, P.A.; COUSTAN, D.R. Hyperinsulinemia in macrosomic infants of non-diabetic mothers. **Diabetes Care**, New York, v. 16, p. 32-36, 1993.

HOGGARD, N.; HUNTER, L.; TRAYHURN, P. Leptin and reproduction. **The Proceedings of the Nutrition Society**, London, v. 57, p. 421-427, 1998.

HOGGARD, N.; HUNTER, L.; DUNCAN, J. Leptin and leptin receptor mRNA protein expression in the murine fetus and placenta. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 94, p. 11073-11078, 1997.

HOGGARD, N.; HUNTER, L.; LEA, R.G. Ontogeny of the expression of leptin and its receptor in the murine fetus and placenta. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 83, p. 317-326, 2000.

HOLLINGSWORTH, D.R. Alterations of maternal metabolism in normal and diabetic pregnancies: Differences in insulin-dependent, non-insulin-dependent, and gestational diabetes, **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 146, p. 417-429, 1983.

HYTINANTTI, T.K.; JUNTUNEN, M.; KOISTINEN, H.A. Postnatal changes in concentrations of free and bound leptin, **Archives Disease Child Fetal Neonatal**, v. 85, n. 2, p. 123-126, Sep. 2001.

JAQUET, D.; LEGER, J, LEVY-MARCHAL, C. Ontogeny of leptin in human fetuses and newborns: effect of intrauterine growth retardation on serum leptin concentrations, **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v.83, n. 4, p. 1243-1246, 1998.

JASIK, J.; MIKULANDRA, F.; PERISA, M. Effect of insulin and insulin-like growth factor I on fetal macrosomia in healthy women. **Collegium Antropologicum**, v. 25, p. 535-538, 2001.

JOHNSON, R. & BHATTACHARYYA, G. **Statistics Principles and Methods**. New York: John Wiley & Sons. 1986. 578p.

JOVANOVIC-PETERSON, L.; TETERSEN, C.M.; REED, G.F. Maternal postprandial glucose levels and infant birth weight: Diabetes in Early Pregnancy Study, **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 164, p. 103 – 109, 1991.

KAUTZKY-WILLER, A.; PACINI, G.; TURA, A. et al. Increased plasma leptin in gestational diabetes. **Diabetologia**, Berlin, v. 44, p. 164-172, 2001.

KIEFFER, T.J.; HELLER, R.S.; HABENER, J.F. Leptin receptors expressed on pancreatic beta cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, San Diego, v. 224. p. 522-527, 1996.

KING, J.C.; BUTTE, N.F.; BRONSTEIN, M. Energy metabolism during pregnancy: influence of maternal energy status. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 59 (supple), p. 439-445, 1994.

KITAJIMA, M.; OKA, S.; YASUHY, I. Maternal serum triglyceride at 24-32 weeks gestation and newborn weight in nondiabetic women with positive diabetic screens, **Obstetrics & Gynecology**, New York, v.97, p. 776-779, 2001.

KJOS, S.L.; SCHAEFER-GRAF, U.; SARDESI, S. A randomized controlled trial using glycemic plus fetal ultrasound parameters versus glycemic parameters to determine insulin therapy in gestational diabetes with fasting hyperglycemia. **Diabetes Care**, New York, v. 24, p. 1904-1909, 2001

KOISTINEN, H.A.; KOIVISTO, V.A.; ANDERSSON, S. Leptin concentration in cord blood correlates with intrauterine growth. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 82, p. 3328-3330, 1997.

KOLACZYNSKI, J.W.; NYCE, M. R.; CONSIDINE, R. V. Acute and chronic effect on leptin production in humans. **Diabetes**, New York, v. 45, p. 699-701, 1996.

KRATZSCH, J.; HÖCKEL, M.; KIESS, W. Leptin and pregnancy outcome. **Current Opinion in Obstetrics & Gynecology**, Philadelphia, v. 12, p. 501-505, 2000.

KUMARI, A. S. Pregnancy outcome in women with morbid obesity: **International Journal Gynecology and Obstetrics**, Tarpnein, v. 73, p. 101-107, 2001

LAGE, M.; GARCIA-MAYOR, R.V.; TOME, M.A. Serum leptin levels in women throughout pregnancy and the postpartum period and in women suffering spontaneous abortion. **The Journal of Clinical Endocrinology**, Springfield, v. 50, p. 211-216, 1999.

LAIRD, S.M.; QUINTON, N.D.; ANSTIE, B. Leptin and leptin-binding activity in women with recurrent miscarriage: correlation with pregnancy outcome. **Human Reproduction**, Oxford, v. 16, p. 2008-2013, 2001.

LAPILLONNE, A.; GUERIN, S.; BRAILLON, P. Diabetes during pregnancy does not alter whole body bone mineral contents in infants. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 84, p. 3993-3997, 1997.

LAUZUS, F.F.; SCHMITZ, O.; VESTERGAARD, H. Serum leptin levels in pregnant women with type 1 diabetes mellitus, **Acta Obstétrica et Gynecologica Scandinavica**, Copenhagen, v. 80, p 596-601, 2001.

LEA, R. G.; HOWE, D.; HANNAH, L. T. Placental leptin in normal, diabetic and fetal growth-retarded pregnancies. **Molecular Human Reproduction**, Oxford, v. 6, n. 8, p. 763-769, Aug, 2000.

LEA, R.G.; HANNAH, L.; BLADES, J.; HOWE, D.; HOGGARD, N. Placental leptin in normal and abnormal pregnancies. **Journal of Reproduction and Fertility Abstract Series**, Cambridge, v.21, Abstract 41, 1998.

LEPERCQ, J.; CAUZAC, M.; LAHLOU, N. et al. Overexpression of placental leptin in diabetic pregnancy: a critical role for insulin. **Diabetes**, New York, v. 47, n. 5, p. 847-850, May., 1998.

LEPERCQ, J.; CHALLIER, J.; GUERRE-MILLO, M. et al. Prenatal leptin production: evidence that fetal adipose tissue produces leptin. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Springfield, v. 86, n. 6, p. 2409-2413, Jun., 2001.

LEPERCQ, J.; MOUZON, S.H. Leptine et grossesse . **Journal de Gynecologie, Obstetrique et Biologie de la Reproduction**, Paris, v. 31, n. 2, p. 167-172, Feb., 2002.

LEPERCQ, J.; LAHLOU, N.; TIMSIT, J. Macrosomia revisited: ponderal index and leptin delineate subtypes of fetal overgrowth. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 181, p. 621-625, 1999.

LEPERCQ, J.; TIMSIT, J.; MOUZON, S.H. Étiopathogénie de la macrosomie foetale. **Journal de Gynecologie, Obstetrique et Biologie de la Reproduction**, Paris, v. 29, p. 6-12, 2000.

LEWANDOWSKI, K.; HORN, R.; O'CALLAGHAN, C.J. et al. Free leptin, bound leptin and soluble leptin receptor in normal and diabetic pregnancies. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v.84, n. 1, p. 300-306, Jan., 1999.

LICINIO J, MANTZOROS C, NEGRÃO AB et al. Human leptin levels are pulsatile and inversely related to pituitary-adrenal function. **Nature Medicine**, New York, v. 3, p. 575-579, 1997.

LINNEMANN, K.; MALEK, A.; SCHNEIDER, H.; FUSCH, C. Physiological and pathological regulation of feto/placento/maternal leptin expression. **Biochemical Society Transactions**, London, v. 29, p. 86-90, 2001.

LINNEMANN, K.; MALEK, A.; SAGER, R. Leptin production and release in the dually in vitro perfused human placenta. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 85, p. 4298-4301, 2000.

LIU, Z.J.; LIU, P. Q.; DING, Y. Maternal plasma leptin levels and their relationship to insulin and glucose in pregnant women with gestational diabetes mellitus and gestational impaired glucose tolerance. **Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi**, Beiping, v. 38, p. 261-263, n. 5, May, 2003.

LIU, C.; LIU, X.J.; BARRY, G. Expression and characterization of a putative high affinity human soluble leptin receptor. **Endocrinology**, Springfield, v. 138, p. 3548-3554, 1997.

LUCAS, M.J.; LEVENO, K.J.; WILLIAMS, M.L. Early pregnancy glycosylated hemoglobin, severity of diabetes, and fetal malformations, **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 161, p. 426-431, 1989.

MAFFEI, M.; VOLPE, L.; CIANNI, G. Plasma leptin levels in newborns from normal and diabetic mothers, **Hormone and Metabolic Research**, Stuttgart, v. 30, p. 575-580, n. 9, Sep, 1998.

MAFFEI, M.; HALAAS, J.; RAVUSSIN, E.; PRATLEY, R.E.; LEE, G.H.; ZHANG, Y. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. **Nature Medicine**, New York, v. 1, p. 1155-1161, 1995.

MALEE, M.P.; VERMA, A.; MESSERLIAN, G. Association between maternal and child leptin levels 9 years after pregnancy complicated by gestational diabetes. **Hormone and Metabolic Research**, Stuttgart, v. 34, n. 4, p. 212-216, Apr, 2002.

MANDERSON, J. G.; PATTERSON, C.C.; HADDEN, D.R. Leptin concentrations in maternal serum and cord blood in diabetic and nondiabetic pregnancy, **Obstetrics & Gynecology**, New York, v. 188, p. 1326-1332, n. 5, May, 2003.

MANTZOROS, C.S. & MOSCHOS, S.J. Leptin: in search of role(s) in human physiology na pathophysiology. **The Journal of Clinical Endocrinology**, Springfield, v. 49, p. 551-567, 1998.

MASUZAKI, H.; OGAWA, Y.; SAGAWA, N. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. **Nature Medicine**, New York, v. 3, n. 9, p. 1029-1033, Sep., 1997.

MATSUDA, J.; YOKOTA, I.; IIDA, M. Serum leptin concentration in cord blood: relationship to birth weight and gender. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 82, n. 5, p. 1642-1644, May, 1997.

MCCARTHY, J.F.; MISRA, D.N.; ROBERTS, J.M. Maternal plasma leptin is increased in preeclampsia and positively correlates with fetal cord concentration. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 180, p. 731-736, 1999.

MCELVY, S.S.; MODOVNIK, M.; ROSENN, B. A focused preconceptional and early pregnancy program in women with type 1 diabetes reduces perinatal mortality and malformation rates to general population levels. **The Journal of Maternal-Fetal Medicine**, New York, v. 9, p. 14-19, 2000.

MCFARLAND, M.B.; TRYLOVICH, C.G.; C.C.; LANGE, O. Anthropometric differences in macrosomic infants of diabetic and nondiabetic mothers. **The Journal of Maternal-Fetal Medicine**, New York, v. 7, p. 292-297, 1998.

METZGER, B.E.; COUSTAN, D.R. Summary and recommendations of the Fourth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. **Diabetes**, New York, v. 21, suppl 2, 1998.

MICHLIN, R.; OETTINGER, M.; ODEH, M. Maternal obesity and pregnancy outcome., **The Israel Medical Association Journal**, Ramat Gan, v. 2, p. 10-14, 2000.

MILLER, E.; HARE, J.W.; CLOHERTY, J.P.; Elevated maternal hemoglobin A1c in early pregnancy and major congenital anomalies in infants of diabetic mothers, **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 304, p. 1331-1338, 1981.

MILLER, H.C. & HASSANEIN, K. Diagnosis of impaired fetal growth in newborn infants. **Pediatrics**, Springfield, v. 48, p. 511-522, 1971.

MILNER, R.D.G. & GLUCKMAN, P.D. Regulation of intrauterine growth. In: GLUCKMAN PD, HEYMANN MA, eds. **Pediatrics and perinatology. The scientific basis**, ed 2. Arnold/Oxford University Press. 1996.

MISE, H.; SAGAWA, N.; MATSUMOTO, T. Augmented placental production of leptin in preeclampsia: possible involvement of placental hypoxia. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 83, n. 9, p. 3225-3229, Sep, 1998.

MOORE, T.R. Diabetes in pregnancy. In: CREASY, R.K.; RESNIK, R. **Maternal-fetal medicine**. 5th ed. Philadelphia: Saunders, 2003. cap. 49, p. 1023-1061.

MOUNZIH, K.; QIU, J.; EWART-YOLAND, A.; CHEHAB, F.F. Leptin is not necessary for gestation and parturition but regulates maternal nutrition via leptin resistance state. **Endocrinology**, Springfield, v. 139, p. 5259-5262, 1998.

MOUZON, S.H.; LEPERCQ, J. Leptine placentaire et pathologies de la grossesse. **Gynecologie, Obstetrique & Fertilité**, Paris, v. 29, p. 534-537, 2001.

MÜHLHAUSER, J.; MARZIONE, D.; MORRONI, M. Co distribution of basic fibroblast growth factor and heparin sulfate proteoglycan in the growth zones of the human placenta. **Cell and Tissue Research**, Berlin, v. 285, p. 101-107, 1996.

MUKHERJEA, R.; CASTONGUAY, T.W.; DOUGLASS, L.W.; MOSER-VEILLON, P. Elevated leptin concentrations in pregnancy and lactation: possible role as a modulator of substrate utilisation. **Life Sciences**, Oxford, v. 65, p. 1183-1193, 1999.

NG, P.C.; LAM, C.W.K.; LEE, C.H. Leptin and metabolic hormones in infants of diabetic mothers, **Archives of Diseases in Childhood. Fetal and neonatal Edition**, London, v. 83, p. 193-197, 2000.

OKEREKE, N.C.; CELEBREZZE, J.U.; PRESLEY, L.H. The effect of gender and gestational diabetes mellitus on cord leptin concentration. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 187, p. n. 3, Sep, 2002.

ONG, K.K.; AHMED, M.L.; SHERRIFF, A. Cord blood leptin is associated with size at birth and predicts infancy weight gain in humans. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 84, p. 1145-1148, 1999.

PAPASRYROU-RAO, S.; SCHENEIDER, S.H.; PETERSEN, R.N.; FRIED, S.K. Dexamethazone increases leptin expression u\in humans in vivo. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 82, p. 3408-3412, 1997.

PEDERSEN, J. Diabetes and Pregnancy: Blood glucose of newborns infants. **Danish Science**, Copenhagen, 1952.

PERSSON, B.; WESTGREN, M.; CELSI, G. Leptin concentrations in cord blood of normal newborn infants and offsprings of diabetic mothers. **Hormone and Metabolic Research**, Stuttgart, v. 31, p. 467-471, 1999.

PLATT, M.J.; STANISSTREET, M.; CASSON, I.F. St Vincent´s declaration 10 years on: Outcomes of diabetic pregnancies. **Diabetic Medicine**, Oxford, v. 19, p. 216 – 221, 2002.

QIU, C.; WILLIAMS, M.A.; VADACHKORIA, S. Increased maternal plasma leptin in early pregnancy and risk of gestational diabetes mellitus, **Obstetrics & Gynecology**, New York, v. 103, n. 3, p. 519-525, Mar, 2004.

REECE, E. A.; SIVAN, E.; FRANCIS, G. Pregnancy outcomes amongs women with and without diabetic microvascular disease versus non-diabetic controls. **American Journal Perinatology**, New York, v. 15, p. 549-556, 1998.

REITMAN, M.L.; BI, S.; MARCUS, S.; GAVRILOVA, O. Leptin and its role in pregnancy and fetal development – na overview. **Biochemical Society**, London, v. 29, p. 68-72, 2001.

ROTH, S.; ABERNATHY, M.P.; LEE, W.H. Insulin-like growth factors I and II peptide and messenger RNA levels in macrosomic infants of diabetic pregnancies, **Journal Society Gynecologic Investigation**, New York, v 3, p- 78-83, 1996.

RUDGE, M.V.; CALDERON, I, M.; RAMOS, M.D. Perinatal outcome of pregnancies complicated by diabetes and by maternal daily hyperglycemia nor related to diabetes:

A retrospective 10-years analysis. **Gynecology and Obstetric Investigation**, Basel, v. 50, p. 108-112, 2000.

SAAD, M.F.; RIAD-GABRIEL, M.G.; KHAN, A. Diurnal and ultradian rhythmicity of plasma leptin: Effects of gender and adiposity. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 83, p. 453-459, 1998.

SABOGAL, J.C.; MUNOZ, L. Leptin in Obstetrics and Gynecology: a review, **Obstetrical and Gynecological Survey**, v. 56, n. 4, p.225-230, 2001

SACKS, D.A. Fetal macrosomia and gestational diabetes: What's the problem? **Obstetrics & Gynecology**, New York, v. 81, p. 775-780, 1993.

SALVESEN, D.R.; BRUDNELL, J, M.; PROUDLER, A.J. Fetal pancreatic beta cell function in pregnancies complicated by maternal diabetes mellitus: Relationship to fetal academia and macrosomia. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 168, p. 1363-1369, 1993.

SAS INSTITUTE INC. **SAS User's Guide: Statistics** Version 5. Cary NC: SAS Institute Inc., 1985.

SATTAR, N.; GREER, I.A.; PIRWZNI, I. et al. Leptin levels in pregnancy: marker for fat accumulation and mobilization? **Acta Obstétrica et Gynecologica Scandinavica**, Copenhagen, v. 77, p. 278-283, 1998.

SCHWARTZ, R.; GRUPPUSO, P.A.; PETZOLD, K. Hyperinsulinemia and macrosomia in the fetus of the diabetic mother. **Diabetes Care**, New York, v. 17, p. 640-645, 1994.

SCHWARTZ, M.W.; SEELEY, R.J.; CAMPFIELD, L.A.; BURN, P.; Baskin, D.G. Identification of leptin action in rat hypothalamus. **The Journal of Clinical Investigation**, New Haven, v. 98, p. 1101-1106, 1996.

SCHUBRING, C.; KIESS, W.; ENGLARO, P. Levels of leptin in maternal serum, amniotic fluid, and arterial and venous cord blood: relation to neonatal and placental weight. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 82, p. 1480-1483, 1997.

SCHUBRING, C.; ENGLARO, P.; SIEBLER, T. et al. Longitudinal analysis of maternal serum leptin levels during pregnancy, at birth and up to six weeks after birth: relation to body mass index, skinfolds, sex steroids and umbilical cord blood leptin levels. **Hormone Research**, Basel, v. 50, p. 276-283, 1998.

SCHUBRING, C.; SIEBLER, T.; KRATZSCH, J. Leptin serum concentrations in healthy neonates within the first week of life: relation to insulin and growth hormone levels, skinfold thickness, body mass index and weight. **The Journal of Clinical Endocrinology**, Springfield, v. 51, p. 199-204, 1999.

SCHULZ, S.; HÄCKEL, C.; WEISE, W. Hormonal regulation of neonatal weight: placental leptin and leptin receptors. **British Journal of Obstetrics and Gynaecology**, London, v.107, p. 1486-1491, 2000.

SEÑARIS, R.; GARCIA-CABALLERO, T.; CASABIELL, X. et al. Synthesis of leptin in human placenta. **Endocrinology**, Springfield, v. 138, n. 10, p. 4501-4504, Oct., 1997.

SHEKHAWAT, P.S.; GARLAND, J.S.; SHIVPURI, C. Neonatal cord blood leptin: Its relationship to birth weight, body mass index, maternal diabetes, and steroids. **Pediatric Research**, Basel, v. 43, p. 338-343, 1998.

SIERRA-HONIGMANN, M.R.; NATH, A.K.; MURAKAMI, C. Biological action of leptin as na angiogenic factor. **Science**, Washington, v. 281, p. 1683-1686, 1998.

SIMMONS, D. Interrelation between umbilical cord serum sex hormones, sex hormone-binding globulin, insulin-like growth factor I, and insulin in neonates from normal pregnancies and pregnancies complicated by diabetes. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 80, p. 2217-2221, 1995.

SIVAN, E.; LIN, M.; HOMKO, J. et al. Leptin is present in human cord blood. **Diabetes**, New York, v. 46, n. 5, p. 917-919, May., 1997.

SIVAN, E.; WHITTAKER, P.; SINHA, D.; HOMKO, C.J. et al. Leptin in human pregnancy: the relationship with gestational hormones. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 179, n. 5, p. 1128-1132, Nov., 1998.

SLIEKERT, L.J.; SLOOP, K.W.; SURFACE, P.L. Regulation of expression of ob mRNA and protein by glucocorticoids and cAMP. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore 1996; 271: 5301-5304.

SPYER, G.; HATTERSLEY, A. T.; SYKES, J. E. Influence of maternal and fetal glucokinase mutations in gestational diabetes. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 185, p. 240, 2001.

STOCK, S.M.; BREMME, K.A. Elevation of plasma leptin levels during pregnancy in normal and diabetic women. **Metabolism**, New York, v. 47, n. 7, p. 840-843, July, 1998.

SUTHERLAND, H.W.; PRITCHARD, C.W. Increased incidence of spontaneous abortion in pregnancies complicated by maternal diabetes mellitus. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 155, p. 135-141, 1986.

TAKAHASHI, Y.; YOKOYAMA, Y.; KAWABATA, I. Leptin as an acute stress-related hormone in the fetoplacental circulation. **Obstetrics & Gynecology**, New York, v.100, n.4, p.655-658, October, 2002.

TAMAS, P.; SULYOK, E.; SZABO, I. Changes of maternal serum leptin levels during pregnancy. **Gynecologic and Obstetric Investigation**, Basel, v. 46, p. 169-171, 1998.

TAMURA, T.; GOLDENBERG, R.L.; JOHNSTON, K.E.; CLIVER, S.P. Serum leptin concentrations during pregnancy and their relationship to fetal growth. **Obstetrics and Gynecology**, New York, v. 91, p. 389-395, 1998.

TAPANAINEN, P.; LEINONEN, E.; RUOKONEN, A. Leptin concentrations are elevated in newborn infants of diabetic mothers. **Hormone Research**, Basel, v. 55, n. 4, p. 185-190, 2001.

TARTAGLIA, L.A. The leptin receptor. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore , v. 272, p. 6093-6096, 1997.

TEPPA, R.J.; NESS, R.B.; CROBLEHOLME, W.R.; ROBERTS, J.M. Free leptin is increased in normal pregnancy and further increased in preeclampsia. **Metabolism**, New York, v. 49, n. 8, Aug, 2000.

TUOMINEN, J.A.; EBELING, P.; STENMAN, U. Leptin synthesis is resistant to acute effects of insulin in insulin-dependent diabetes mellitus patients. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v.82, p. 381-382, 1997.

TURPEINEM, A.K.; HAFFNER, S.M.; LOUHERANTA, A.M. Serum leptin in subjects with impaired glucose tolerance in relation to insulin sensitivity and first-phase insulin response. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, Hampshire, v. 21, p. 284-287, 1997.

VAN ASSCHE, F.A.; HOLEMANS, K.; AERTS, L. Long term consequences for offspring of diabetes during pregnancy. **British medical Bulletin**, London, v. 60, p-173-179, 2001.

VARVARIGOU, A.; MANTZOROS, C.S.; BERATIS, N.G. Cord blood leptin concentrations in relation to intrauterine growth. **The Journal of Clinical Endocrinology**, Springfield, v. 50, p. 177-183, 1999.

VERHAEGHE, J.; VAN BREE, R.; VAN HERCK, E. C-peptide, insulin-like growth factors I and II and insulin-like growth factor binding protein-1 in umbilical cord serum: correlations with birth weight. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 169, n. 1, p. 89-97, July, 1993.

VITORATOS, N.; SALAMALEKIS, E.; KASSANOS, D. et al. Maternal plasma leptin levels and their relationship to insulin and glucose in gestational-onset diabetes. **Gynecologic and Obstetric Investigation**, Basel, v. 51, p. 17-21, 2001.

VITORATOS, N.; CHRYSTODOULACOS, G.; SALAMALEKIS, E. Fetoplacental leptin levels and their relation to birth weight and insulin in gestational diabetic pregnant women. **Journal Obstetrics and Gynaecology**, St Louis, v. 22, p. 29-33, n. 1. Jan, 2002.

VOHR, B, R.; MCGARVEY, S.T.; COLL, C.G.; Effects of maternal gestational diabetes and adiposity on neonatal adiposity and blood pressure. **Diabetes Care**, New York, v. 18, p. 467-471, 1995.

WABITSCH, M.; BLUM, W.F.; MUCHE, R.; BRAUN, M.; HUBE, F. Contribution of androgens to the gender difference in leptin production in obese children and adolescents. **Journal of Clinical Investigation**, Basel, v. 100, p. 808-813, 1997.

WALTHER, R.J.; RAMAEKERS, L.H.J. The ponderal index as a measure of the nutritional status at birth and its relation to some aspects of neonatal morbidity. **Journal of Perinatal Medicine**, Berlin, v. 10, p. 42-47, 1982.

WAUTERS, M.; CONSIDINE, R.V.; VAN GAAL, L.F. Human leptin: from na adipocyte hormone to na endocrine mediator. **European Journal of Endocrinology** , Oslo, v. 143, p. 293-311, 2000.

WIDJAJA, A.; HOFMANN, R.; MÜHLEN, A.; BRABANT, G. Free na bound leptin levels during human pregnancy. **Gynecological Endocrinology**, Carnforth, v. 14, p. 264-269, 2000.

WIDJAJA, A.; STRATTON, I.; HORN, R. UKPDS: plasma leptin, obesity, and plasma insulin in type 2 diabetics subjects. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 82, p. 654-657, 1997.

WIESNER, G.; VAZ, M.; COLLIER, G. Leptin is released from the human brain: Influence of adiposity and gender. . **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v 84, p. 2270-2274, 1999.

WIZNITZER, A.; REECE, E.A.; HOMKO, C. Insulin-like growth factors, their binding proteins and fetal macrosomia in nondiabetic pregnant women. **American Journal of Perinatology**, New York, v. 15, p. 23-28, 1998.

WOLF, H.J.; EBENBICHLER, C.F.; HUTER, O. Fetal leptin and insulin levels only correlate in large-for gestational age infants. **European journal of Endocrinology**, Oslo, v. 142, p. 623-629, 2000.

WYLIE, B.R.; KONG, J.; KOZAK, S.E. Normal perinatal mortality in type 1 diabetes mellitus in a series of 300 consecutive pregnancy outcomes, **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 19, p. 169 -173, 2002.

XIAOMING, B.E.N.; YUMING, Q.I.N.; SHENGMEI, W.U. Placental leptin correlates with intrauterine fetal growth and development. **Chinise Medical Journal**, Peking, v. 114, p. 636-639, 2001.

YOSHIMITSU, N.; DOUCHI, T.; KAMIO, M. Differences in umbilical venous and arterial leptin levels by mode of delivery. **Obstetrics & Gynecology**, New York, v. 96, n. 3, p. 342-345, Sep., 2000.

YURA, S.; SAGAWA, N.; OGAWA, Y. Augmentation of leptin synthesis and secretion through activation of protein kinases A and C in cultured human trophoblastic cells. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v.83, n. 10, p. 3609-3614, Oct., 1998a.

YURA, S.; SAGAWA, N.; MISE, H. A positive umbilical venous-arterial difference of leptin level and its rapid decline after birth. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 178, n. 5, p. 926-930, May., 1998b.

ZHANG, Y.; PROENCA, R.; MAFFEI, M.; BARONE, M.; LEOPOLD, L.; FRIEDMAN, J.M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, London, v. 372, n.12, p. 425-431, Dec., 1994.

9 ANEXOS

ANEXO 1

Centro de Medicina Fetal – HC – UFMG – Projeto Leptina CONSENTIMENTO PÓS-INFORMADO TERMO DE ESCLARECIMENTO

Você tem está sendo convidado a participar da pesquisa ESTUDO DA CORRELAÇÃO ENTRE O ÍNDICE PONDERAL E A CONCENTRAÇÃO DE LEPTINA MATERNA E FETAL EM GESTANTES DIABÉTICAS E NÃO DIABÉTICAS. Os avanços na área da saúde ocorrem através de estudos como este, por isso a sua participação é importante.

O objetivo deste estudo é tentar estabelecer a influência que o hormônio chamado leptina pode exercer na gravidez. Sabe-se que pessoas diabéticas produzem maior quantidade deste hormônio. Serão comparadas as dosagens de leptina em mulheres gestantes com e sem diabetes e no sangue de cordão umbilical de seus recém-nascidos para verificar como este hormônio se comporta na mãe e no feto.

Caso você participe, será necessário fazer exames de sangue, no momento do parto. Será colhido seu sangue e do cordão umbilical de seu recém-nascido. Você poderá ter algum desconforto quando receber uma picada para colher o sangue do seu braço. A coleta de sangue do cordão umbilical não trás qualquer desconforto ao recém-nascido. Não há nenhum procedimento que traga risco à sua vida ou de seu filho.

Você poderá ter todas as informações que quiser e poderá não participar da pesquisa ou retirar seu consentimento a qualquer momento, sem prejuízo no seu atendimento.

Pela sua participação no estudo, você não receberá qualquer valor em dinheiro, mas terá a garantia de que todas as despesas necessárias para a realização desta pesquisa não serão de sua responsabilidade. Seu nome não aparecerá em qualquer momento do estudo, pois você será identificada com um número.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE APÓS ESCLARECIMENTO

Eu, _____ ,
li e/ou ouvi o esclarecimento acima e compreendi para que serve o estudo e qual procedimento a que serei submetido. A explicação que recebi esclarece os riscos e benefícios do estudo. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento, sem justificar minha decisão e que isso não afetará meu tratamento. Sei que meu nome não será divulgado, que não terei despesas e não receberei dinheiro por participar do estudo. Eu concordo em participar do estudo.

Belo Horizonte, ...//.....

Assinatura do voluntário ou seu responsável legal

Documento de identidade

Assinatura do pesquisador responsável

Assinatura do pesquisador orientador

Telefone de contato dos pesquisadores: 3248 9424

Em caso de dúvida em relação a esse documento, você pode entrar em contato com o Comitê Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da UFMG, pelo telefone 3248 9364

ANEXO 2

CEMEFE-HOSPITAL DAS CLÍNICAS/UFMG

PROTOCOLO 12. DIABETES E GRAVIDEZ

2 - Diabetes Gestacional

2.1 - Rastreamento e diagnóstico

- Ao início do pré-natal: glicemia jejum;
- Se glicemia jejum ≥ 105 em 2 ocasiões
 - ↳ Dispensar *screening* e curva $\Rightarrow$ diagnóstico de DG.
- Se glicemia $< 105 \Rightarrow$ COM 24 A 28 SEMANAS: TESTE DE SULLIVAN, em TODAS as gestantes.
- se glicemia 1 hora após 50g de dextrosol ≥ 186 mg% , dispensar TOTG $\Rightarrow$ diagnóstico de DG.
- Glicemia 1 hora após 50 g de Dextrosol
 - ⇓
 - se ≥ 130 mg $\Rightarrow$ TOTG (Teste Oral de Tolerância à Glicose) com 100 g de Dextrosol, 3 hs.
- se dois valores alterados: diabetes gestacional;
- se um valor alterado: tolerância alterada a carboidratos.

TOTG: Valores Máximos Para Glicemia no TOTG (Sullivan & Mahan)

Tempo	Valor máximo
Jejum	105 mg/dL
1 hora	190 mg/dL
2 horas	165 mg/dL
3 horas	145 mg/dL

TOTG: Valores Máximos Para Glicemia no TOTG (Carpenter & Constan)

Tempo	Valor máximo
Jejum	95 mg/dL
1 hora	180 mg/dL
2 horas	155 mg/dL
3 horas	140 mg/dL

* Utilizamos como padrão a curva de valores máximos proposta por Sullivan (acima).

2.1.1 - Indicações para realizar o teste de Sullivan precocemente e repetir com 32 semanas:

- IMC > 35 (Índice de massa corporal = $\text{Kg}/\text{altura}^2$);
- Diabetes gestacional prévio;
- Natimorto ou malformado prévio sem causa esclarecida;
- Macrossômico prévio.
- História familiar positiva em parentes de primeiro grau (mãe, pai, irmãos).
- Idade > 35 anos.

ANEXO 3

TABELA 8

Análise descritiva das pacientes quanto à idade, número de gestações e número de partos considerando-se o grupo

Variável	Grupo	Medidas descritivas					p
		Mínimo	Máximo	Mediana	Média	DP	
Idade	G1	18,0	42,0	31,5	31,5	6,6	0,007 G1 > G2
	G2	16,0	36,0	28,5	27,0	6,2	
Nº de gestações	G1	1,0	9,0	2,0	2,3	1,8	0,672 G1 = G2
	G2	1,0	5,0	2,0	2,1	1,1	
Nº de Partos	G1	0,0	8,0	1,0	1,2	1,7	0,970 G1 = G2
	G2	0,0	4,0	1,0	1,0	1,1	

Nota: a probabilidade de significância refere-se ao teste t de Student para amostras independentes

Legenda: G1 → diabéticas

G2 → controle

ANEXO 4

TABELA 9

Análise descritiva das pacientes quanto à estatura, peso e IMC materno considerando-se o grupo

Variável	Grupo	Medidas descritivas					P
		Mínimo	Máximo	Mediana	Média	DP	
Altura	G1	1,5	1,7	1,6	1,6	0,0	0,355 G1 = G2
	G2	1,5	1,8	1,6	1,6	0,1	
Peso Inicial	G1	52,0	131,0	76,5	77,6	16,9	< 0,001 G1 > G2
	G2	44,0	90,0	58,5	59,9	10,4	
Peso Final	G1	56,0	130,8	87,2	87,7	16,1	< 0,001 G1 > G2
	G2	50,5	94,9	72,7	72,8	10,1	
IMC Inicial	G1	22,0	46,0	29,9	29,6	5,6	< 0,001 G1 > G2
	G2	17,2	31,6	22,9	23,4	4,0	
IMC Final	G1	23,5	45,8	34,5	33,3	5,4	0,001 G1 > G2
	G2	20,3	35,9	29,1	28,4	4,2	
Δ IMC	G1	-0,1	8,8	3,8	3,8	2,4	0,031 G1 > G2
	G2	1,5	10,8	5,0	5,1	2,2	

Nota: a probabilidade de significância refere-se ao teste t de Student para amostras independentes

Legenda: G1 → diabéticas

G2 → controle

ANEXO 5

TABELA 10

Análise descritiva das pacientes quanto à idade gestacional considerando-se o grupo

Grupo	Medidas descritivas					p
	Mínimo	Máximo	Mediana	Média	DP	
G1	35,0	40,0	38,0	37,8	1,0	0,010 G1 < G2
G2	34,0	41,0	39,0	38,4	1,5	

Nota: a probabilidade de significância refere-se ao teste Mann-Whitney

Legenda: G1 → diabéticas

G2 → controle

ANEXO 6

TABELA 11

Caracterização dos pacientes quanto a concentração de leptina considerando-se o grupo

Leptina	Grupo	Medidas descritivas					P
		Mínimo	Máximo	Mediana	Média	DP	
Materna	G1	2,4	57,6	18,2	21,7	14,1	0,871 G1 = G2
	G2	5,6	50,5	17,7	21,1	12,4	
Fetal Arterial	G1	1,2	38,2	8,9	12,7	10,2	0,084 G1 = G2
	G2	0,8	42,6	6,1	8,4	8,5	
Fetal Venosa	G1	1,3	43,5	10,0	14,5	12,1	0,062 G1 = G2
	G2	1,2	40,5	6,7	9,0	8,4	
Δ art-ven	G1	-22,2	2,3	-0,3	-1,8	4,9	0,662 G1 = G2
	G2	-16,3	10,7	-0,4	-0,6	3,8	

Nota: a probabilidade de significância refere-se ao teste Mann-Whitney

Legenda: G1 → diabéticas

G2 → controle