

Ruolo della leptina in preeclampsia e IUGR

L. BATTISTA, F. TREZZA, R. FUSCO, G. CHIACCHIO, A.E. PARETO, M.L. FALCO, A. TOLINO

RIASSUNTO: Ruolo della leptina in preeclampsia e IUGR.

L. BATTISTA, F. TREZZA, R. FUSCO, G. CHIACCHIO, A.E. PARETO, M.L. FALCO, A. TOLINO

La preeclampsia è la maggiore complicanza gravidica ed è molto spesso associata al ritardo di crescita intrauterino (IUGR). In entrambi i casi, la patogenesi è ricondotta ad un danno ossidativo placentare. In corrispondenza dello sviluppo di questo deficit placentare si riporta un valore di leptinemia superiore a quello delle gravidanze fisiologiche. Abbiamo studiato un gruppo di 57 pazienti con preeclampsia e un gruppo di controllo composto da 46 gestanti con gravidanze fisiologiche, e abbiamo calcolato il cambiamento dei valori di leptina nel sangue dei due gruppi pre- e post-trattamento farmacologico. È risultato che in corso di preeclampsia la leptinemia è maggiore di quella di una gravidanza fisiologica e che i livelli di leptina calano quando la preeclampsia è trattata farmacologicamente.

SUMMARY: Role of leptin in preeclampsia and IUGR.

L. BATTISTA, F. TREZZA, R. FUSCO, G. CHIACCHIO, A.E. PARETO, M.L. FALCO, A. TOLINO

Preeclampsia is a major complication of pregnancy, and it is very often associated with intrauterine growth retardation (IUGR). In either case, the pathogenesis is due to a placental oxidative damage. When the development of this placental deficit we find a value of placental leptin higher than that of normal pregnancy. We studied a group of 57 women with preeclampsia and a control group of 46 women with physiological pregnancies. In the two groups we have calculated the change of leptin levels in the blood before and after drug treatment. In preeclampsia group leptin values were greater than normal pregnancy. However, leptin levels decrease when preeclampsia is treated pharmacologically.

KEY WORDS: Preeclampsia - Ritardo di crescita intrauterino - Leptina.
Preeclampsia - Intrauterine growth retardation - Leptin.

Introduzione

Nel corso della gravidanza si possono sviluppare molteplici complicanze; tra queste, il rialzo dei valori pressori oltre determinati limiti, con la comparsa di proteinuria ed edemi declivi, caratterizza il quadro della preeclampsia che può evolvere, se non adeguatamente trattata, in uno stato di male epilettico, con scosse tonico-cloniche generalizzate. L'insorgenza o la preesistenza della patologia ipertensiva influiscono negativamente sul decorso della gravidanza. Maggiormente a

rischio sono quelle gravidanze in cui la malattia ipertensiva insorge su patologie sistemiche preesistenti, che già da sole sono fattori di rischio per gravidanze fisiologiche. L'ipertensione arteriosa, in gravidanza, viene definita da valori di pressione sistolica (PAS) ≥ 140 mmHg e di pressione diastolica (PAD) ≥ 90 mmHg; tale riscontro deve verificarsi in almeno 2 misurazioni effettuate a circa 4 ore di distanza l'una dall'altra. L'*ipertensione gestazionale*, che insorge dopo la 20^a settimana di gestazione in donne precedentemente normotese e in assenza di proteinuria e di danno d'organo, si risolve entro le 12 settimane dal parto; è una condizione che complica il 4% di tutte le gravidanze e il 15% delle gravidanze gemellari.

La **preeclampsia** o *gestosi gravidica* è un quadro patologico definito da valori pressori $\geq 140/90$ mmHg, associati a valori di proteinuria ≥ 300 mg/24 ore o di un rapporto proteinuria/creatinina ≥ 30 mg/mmol,

Università degli Studi di Napoli Federico II
Dipartimento clinico di Emergenza Ostetrica e Ginecologica,
Medicina della Riproduzione, Urologia
(Direttore: A. Tolino)

diagnosticato dopo la 20^a settimana di gestazione in donne precedentemente normotese e non proteinuriche. L'instaurarsi di una proteinuria grave ≥ 500 mg/24 ore, o di insufficienza renale acuta, o di alterazioni epatiche, neurologiche ed ematologiche, e la presenza di un ritardo di crescita fetale (IUGR - *Intrauterine Growth Retardation*), indicativi di un coinvolgimento sistemico, devono essere precocemente riconosciuti al fine di attuare un trattamento tempestivo ed evitare l'evoluzione della patologia verso una forma grave e fatale quale l'eclampsia.

L'*eclampsia* è caratterizzata dalla comparsa, in una gravida con precedenti segni di preeclampsia, di accessi convulsivi generalizzati epilettiformi, seguiti da perdita di coscienza, non riconducibili ad alcuna patologia neurologica. Tale condizione è associata a prognosi materna riservata e ad una prognosi fetale spesso infausta.

Molto spesso, infatti, si rende necessario un taglio cesareo d'urgenza, anche in epoca gestazionale bassa, per risolvere il quadro ipertensivo e simil-epilettico, con rischio di distacco intempestivo di placenta e morte fetale intrauterina. Tali patologie ipertensive spesso non rispondono nemmeno all'associazione di più farmaci anti-ipertensivi e regrediscono solo con l'espletamento del parto.

Le fisiologiche modificazioni emodinamiche ed ormonali, finalizzate a creare una circolazione materno-fetale a bassa resistenza, nelle gravidanze complicate da ipertensione arteriosa vengono a mancare e si sviluppa un quadro opposto, con riduzione del flusso ematico placentare ed un incremento delle resistenze periferiche della circolazione materno-fetale. Tra le complicanze materne annoveriamo il distacco intempestivo di placenta normalmente inserita, la coagulazione intravascolare disseminata (CID), l'emorragia cerebrale, l'insufficienza epatica e renale; sono, invece, complicanze fetali l'iposviluppo e la morte fetale intrauterina. Infatti, la percentuale di mortalità perinatale è più alta nei feti di madri preeclamptiche.

La preeclampsia è da considerare, quindi, tra le forme di ipertensione in gravidanza, la più frequente complicanza medica in campo ostetrico e ancora oggi la principale causa di morbosità e mortalità materna e perinatale.

Come detto in precedenza, tra le altre complicanze che possono insorgere in corso di preeclampsia annoveriamo il ritardo di crescita intrauterino (IUGR). Per IUGR si intende un feto piccolo per età gestazionale, con peso alla nascita inferiore al 10° percentile, in quanto ha subito una riduzione del suo potenziale di crescita, a differenza dei feti SGA (*Small for Gestational Age*), che sono costituzionalmente piccoli. Fattori diversi, di origine materna, fetale o utero-placentare, condizionano lo sviluppo di questa patologia. Indi-

pendentemente, però, dalla causa scatenante, alla base del ritardo di crescita esiste sempre un danno vascolare placentare. Tale danno, in caso di pazienti con concomitante preeclampsia può risultare ancora più accentuato. La valutazione dell'IUGR nel corso della gravidanza si basa sul tempestivo riconoscimento della patologia, previa valutazione ecografica, e sul controllo flussimetrico dell'arteria ombelicale. Controlli seriati successivi, ad intervalli ravvicinati, permettono il giusto monitoraggio di tali gravidanze.

Ruolo della placenta

Le evidenze sperimentali degli ultimi anni hanno sottolineato l'importanza di diversi fattori, quali neuroormoni, fattori di crescita, citochine e sostanze vasoattive prodotte dalla placenta e dalle membrane fetali e dalle cellule immunitarie presenti a livello deciduale.

L'invasione del trofoblasto proliferativo nell'endometrio materno, con la formazione di una colata endovascolare, e del piatto basale placentare rappresenta un'interazione dinamica cellula-cellula e cellula-matrice, che può essere assimilata ad una reazione di tipo infiammatorio, nella quale entrano in gioco interleuchine, fattori chemiotattici e di crescita, che modulerebbero la funzione immunitaria materno-fetale, la perfusione utero-placentare, la crescita fetale, nonché i meccanismi del travaglio di parto.

La placenta sarebbe pertanto un organo chiave nell'omeostasi materno-fetale, sin dalle fasi iniziali di impianto, nel mantenimento della gravidanza e nel *timing* del parto. Un inadeguato sviluppo placentare determinerebbe quindi la comparsa di disordini della gravidanza quali aborto, parto prematuro, preeclampsia e ritardo di crescita intrauterino. Infatti, una serie di alterazioni strutturali e funzionali della placenta sono state associate a IUGR e preeclampsia, quali riduzione del numero dei villi, riduzione del diametro, del numero e della superficie, delle dimensioni del lume e della suddivisione delle arterie. Questo inadeguato sviluppo placentare causerebbe ischemia, con conseguente rilascio di fattori in grado di danneggiare l'endotelio vascolare materno.

La leptina

Da recenti studi, si è preso atto che nel corso di gravidanze complicate esistono dei valori alterati di alcune citochine; per induzione ipotalamica gli adipociti e il trofoblasto placentare sintetizzano e secernono una proteina chiamata leptina. La leptina induce una riduzione del peso corporeo agendo su recettori ipotalamici e riducendo l'introito di cibo. Inoltre, la leptina può

agire come segnale per il sistema neuroendocrino e riproduttivo. Il trofoblasto è responsabile del significativo aumento delle concentrazioni plasmatiche di leptina nel corso dei primi due trimestri di una gravidanza fisiologica. Il marcato aumento della sintesi di leptina è da attribuire ad un'imminente alterazione del peso materno, del metabolismo energetico e dello stato ormonale; resta comunque ancora indeterminato il ruolo della leptina nella patogenesi delle gravidanze ad alto rischio.

Nonostante ciò, studi condotti hanno riscontrato valori plasmatici più elevati di leptina in gravidanze complicate da preeclampsia quando comparate con gravidanze fisiologiche.

Scopo dello studio

Gli obiettivi del presente progetto di ricerca sono di valutare le concentrazioni di leptina nel siero materno e nel sangue del cordone ombelicale in gravidanze fisiologiche ed in quelle complicate da preeclampsia e ritardo di crescita intrauterino, e correlarle con il *Body Mass Index* (BMI) materno e con il peso fetale alla nascita. Lo scopo ultimo è quello di individuare marker placentari per la diagnosi precoce di preeclampsia e IUGR.

I risultati ottenuti potrebbero consentire di elaborare un programma di screening per tali patologie, nonché contribuire alla comprensione dei meccanismi patogenetici con la prospettiva di sviluppare nuove strategie terapeutiche, se non addirittura preventive.

Materiali e metodi

Sono state prese in considerazione donne con gravidanza singola e fisiologica a termine come gruppo di controllo e donne con gravidanza singola, affette da preeclampsia e ritardo di crescita intrauterino asimmetrico come gruppo di studio.

L'*American College of Obstetricians and Gynaecologists* definisce preeclamptiche le pazienti con PA >140/90 mmHg e proteinuria > 300 mg/dl nelle 24 ore. Invece la diagnosi di IUGR viene definita dalla circonferenza addominale, ecograficamente determinata, inferiore al 10° centile dei valori di riferimento per i feti della stessa età in Italia e viene confermata se il peso alla nascita è inferiore al 10° centile. Tutte le misurazioni ecografiche vengono eseguite dallo stesso operatore e con lo stesso ecografo.

Tutte le donne arruolate sono bianche, non fumatrici e hanno un BMI pre-gravidico normale (20-26 kg/m²).

Criteri di esclusione sono:

- diabete mellito pre-gravidico o gestazionale;
- ipertensione cronica;

- obesità: BMI >26 o <19;
- disordini vascolari periferici;
- coagulopatie pre-gravidiche;
- malattie autoimmunitarie;
- patologie epatiche, renali, cardiache e tiroidee;
- assunzione nei tre mesi precedenti di farmaci che possono influenzare il sistema endocrino ed autoimmunitario.

Tutte le donne sono state adeguatamente informate sulla patologia in oggetto, sugli obiettivi, sui metodi dello studio e vengono invitate a sottoscrivere un consenso informato. Sono stati registrati età, parità, età gestazionale, pressione sistolica e diastolica, regimi di trattamento, livelli plasmatici di leptina pre- e post-trattamento, emocromo e concentrazione sierica di acido urico e creatinemia, peso fetale stimato, esistenza di IUGR e outcome fetale di tutte le partecipanti.

I valori pressori sono stati calcolati nelle pazienti normotese alle ore 8:00 del mattino, nelle ipertese alle ore 8:00, alle ore 12:00 e alle ore 19:00.

Gli esami ematochimici, effettuati in media ogni 3 giorni, sono risultati finalizzati al controllo dell'emostasi, della funzione renale ed epatica.

Le pazienti sono state suddivise in tre gruppi: 45 donne come gruppo di controllo, 30 donne con preeclampsia moderata e 15 donne da preeclampsia severa. Veniva considerata una preeclampsia moderata per valori di pressione sistolica compresa tra 140 e 160 mmHg e pressione diastolica compresa tra 90 e 110 mmHg, con una proteinuria compresa tra 0,3-2 g/die.

Per preeclampsia severa si intendeva una PA >160/110 mmHg e proteinuria >2 g/die. I tre gruppi erano accoppiati in età materna e gestazionale e BMI.

Le pazienti con preeclampsia moderata sono state sottoposte a trattamento anti-ipertensivo con alfa-metildopa, 250 mg tre volte al giorno; le gestanti con preeclampsia severa sono state trattate con una combinazione di alfa-metildopa e nifedipina (10 mg per valori di PA >150/95 mmHg, nonostante il regolare trattamento con alfa-metildopa a pieno dosaggio).

Il prelievo di sangue materno viene effettuato durante il ricovero e al momento della diagnosi di preeclampsia, con paziente a digiuno ed in posizione supina; in occasione di una normale visita per il gruppo di controllo a 20, 28, 32, 36 settimane di gestazione. Tutti i prelievi di sangue vengono centrifugati immediatamente ed il siero viene conservato a -80°C fino al dosaggio che viene effettuato con test immunoenzimatico ELISA.

Risultati

Questo studio è stato condotto su 45 gravidanze fisiologiche e 45 gravidanze con diagnosi di preeclampsia.

Le caratteristiche demografiche e cliniche delle donne che hanno preso parte al presente studio sono mostrati nella Tabella 1. Il gruppo con preeclampsia severa aveva concentrazioni sieriche di acido urico e valori sistolici e diastolici significativamente più alti. I tre gruppi di studio erano statisticamente simili in età, parità, età gestazionale, BMI, conta piastrinica e livelli sierici di creatininemia.

La Tabella 2 mostra le concentrazioni plasmatiche di leptina delle pazienti valutate prima di iniziare un trattamento antiipertensivo e dopo 7 giorni di trattamento farmacologico. I livelli di leptina pre-trattamento erano significativamente aumentati nel gruppo con preeclampsia severa (range 18,3-49,5 ng/ml) e nel gruppo con preeclampsia moderata (range 20,7-45,4 ng/ml) rispetto al gruppo di controllo (range 8,6-19,2 ng/ml). Dopo 7 giorni di trattamento anti-ipertensivo venivano ricalcolati i livelli plasmatici di leptina sia nel gruppo con preeclampsia moderata che severa (range 10,2-23,5 ng/ml e 11,3-24,4 ng/ml rispettivamente); questa volta i livelli di leptinemia risultavano statisticamente simili a quelli del gruppo di controllo (range 9,1-20,7).

La Tabella 2 dimostra anche lo stato fetale dei 3 gruppi di studio. Le donne con una gravidanza normale e quelle con preeclampsia moderata e severa non differivano significativamente in termini di peso fetale sti-

mato e IUGR. In particolar modo solo 6 donne su 45 appartenenti al gruppo di controllo sviluppavano in gravidanza la presenza di feti con IUGR, nel gruppo con preeclampsia moderata si instaurava uno IUGR in 5 gravidanze delle 30 considerate e, infine, nelle 15 gestanti con preeclampsia severa 3 erano complicate da IUGR.

Discussione

La leptina è descritta come la principale proteina placentare che esplica funzioni metaboliche in una gravidanza normale. Nessuno studio finora effettuato ha chiarito il ruolo della leptina nei meccanismi fisiopatologici delle gravidanze ad alto rischio.

Il presente studio ha valutato le alterate concentrazioni plasmatiche di leptina nella preeclampsia e i suoi valori dopo l'inizio di un regime anti-ipertensivo per il trattamento della preeclampsia. Ha avuto anche lo scopo di determinare se il trattamento anti-ipertensivo, riducendo i livelli di leptina, possa modificare l'outcome fetale. La leptina è stata usata per valutare gli effetti del trattamento anti-ipertensivo sull'outcome fetale, poiché si pensava riflettesse lo stato metabolico fetale, strettamente correlato allo sviluppo di un IUGR e alla morte fetale.

TABELLA 1 - VARIABILI DEMOGRAFICHE E CLINICHE.

| | Gravidanze fisiologiche | Gravidanze con preeclampsia moderata | Gravidanze con preeclampsia severa | P |
|---|-------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|-------|
| Età | 25.3±2.7 | 24.1 ± 1.9 | 22.6 ± 0.8 | 0.44 |
| Parità | 1.7 ± 0.3 | 0.8 ± 0.2 | 0.5 ± 0.1 | 0.57 |
| Età gestazionale | 36.2 ± 3.4 | 34.3 ± 1.7 | 35.4 ± 2.3 | 0.35 |
| BMI | 23.7 ± 2.9 | 21.9 ± 1.8 | 24.6 ± 3.4 | 0.66 |
| Pressione sistolica | 119.1 ± 6.6 | 143.2 ± 7.8 | 155.4 ± 9.9 | 0.03 |
| Pressione diastolica | 74.5 ± 7.2 | 91.9 ± 8.3 | 100.7 ± 10.1 | 0.03 |
| Conta piastrinica | 240.1 ± 38.2 | 233.7 ± 36.4 | 219.6 ± 27.3 | 0.17 |
| Concentrazione sierica di creatinina (mmol/l) | 65.2 ± 6.4 | 70.7 ± 5.2 | 68.8 ± 7.5 | 0.69 |
| Concentrazione sierica di acido urico | 0.22 ± 0.04 | 0.34 ± 0.03 | 0.39 ± 0.07 | 0.04* |

TABELLA 2 - LEPTINEMIA PRE E POST TRATTAMENTO ANTI-IPERTENSIVO, PESO FETALE E IUGR.

| | Gravidanza fisiologica | Preeclampsia moderata | Preeclampsia severa | P |
|-----------------------------------|------------------------|-----------------------|---------------------|------|
| Leptina pre-trattamento (ng/ml) | 16.3 ± 2.8 | 30.6 ± 3.5 | 31.7 ± 4.9 | 0.01 |
| Leptina post- trattamento (ng/ml) | 17.8 ± 2.6 | 18.3 ± 2.9 | 19.1 ± 3.6 | .81 |
| Peso fetale stimato (g) | 2656.4 ± 479.1 | 2813.1 ± 527.4 | 2774.5 ± 511.8 | 0.72 |
| IUGR | 6 (13.1) | 5 (13.5) | 3 (15.0) | 0.76 |

Precedenti studi hanno dimostrato che le concentrazioni plasmatiche di leptina erano significativamente aumentate durante il terzo trimestre in gravide preeclamptiche paragonate a gravidanze fisiologiche. Altri studi hanno documentato che i livelli plasmatici di leptina erano elevati anche prima che la preeclampsia diventasse clinicamente evidente (Anim-Nyame N, et al.; Chan TF et al.).

Il presente studio ha mostrato anche un incremento significativo nei livelli plasmatici di leptina in donne con preeclampsia moderata e severa, suggerendo una esagerata produzione placentare di leptina stessa indotta dall'ipoperfusione placentare. Da ciò il possibile uso dei valori di leptina come marker di preeclampsia (Vitoratos N et al., Hendler I et al.). D'altra parte, elevati livelli di leptina possono rappresentare il meccanismo di adattamento del sistema feto-placentare, che cerca di compensare l'insufficiente perfusione placentare e di provvedere ai bisogni metabolici del feto. Infatti, la preeclampsia induce la formazione di mediatori infiammatori, come TNF-alfa e IL-6, che a loro volta possono stimolare il rilascio di leptina (Masuyama H et al., Bartha JL et al.).

Diverse spiegazioni sono state postulate per specificare il ruolo della leptina nella patogenesi della preeclampsia. Un'ipotesi è che l'over-espressione della leptina placentare e dei suoi recettori stimoli un *turnover* di noradrenalina nel tessuto adiposo bruno, aumentando così l'attività del sistema nervoso simpatico nell'unità materno-fetale. Sebbene l'esatto meccanismo non sia ancora chiaro, studi su animali hanno documentato che una prolungata infusione di leptina up-regola i suoi recettori nelle strutture cardiovascolari e nel sistema nervoso centrale, così da indurre ipertensione.

Un recente studio (Anato V, et al.) ha documentato gli effetti del trattamento anti-ipertensivo sui livelli di leptina plasmatica di donne preeclamptiche, e si è evidenziato che un'ora dopo la somministrazione di una singola dose di alfa-metildopa o idralazina, da sole o in combinazione, i livelli sierici di leptina sono diminuiti significativamente.

Nel presente studio i livelli plasmatici pre-tratta-

mento erano significativamente aumentati nel gruppo con preeclampsia severa, paragonati al gruppo con preeclampsia moderata e rispetto ai controlli. Sette giorni dopo la terapia con alfa-metildopa, o una combinazione di alfa-metildopa e nifedipina, i livelli plasmatici di leptina nei gruppi con preeclampsia severa o moderata erano ridotti ai livelli di leptina dei controlli. Sebbene il presente studio sia limitato dalla durata relativamente breve del trattamento antiipertensivo, i valori di leptina plasmatica, pre- e post-trattamento, nei diversi gruppi mostravano una riduzione statisticamente significativa dopo i trattamenti antiipertensivi.

Il presente studio ha anche fornito dati circa lo stato fetale nelle gravide preeclamptiche trattate con farmaci anti-ipertensivi. Le donne con una gravidanza fisiologica e quelle con una preeclampsia moderata o severa erano risultate statisticamente simili in peso fetale stimato, IUGR e morte fetale. Questi dati possono essere attribuiti al numero relativamente piccolo di gravidanze prese in esame; una coorte più grande potrebbe portare a risultati differenti a favore del trattamento anti-ipertensivo.

L'alfa-metildopa è un agente simpaticolitico centrale che può abbassare i livelli di leptina interferendo con l'interazione tra la leptina ed i suoi recettori nel SNC.

La nifedipina diminuisce la pressione arteriosa bloccando i canali del calcio collocati sui neuroni e sul muscolo liscio cardiaco e vascolare. Sia l'alfa-metildopa che la nifedipina attraversano la placenta, così che possono interferire con il rilascio di leptina placentare. È possibile che il rilascio di leptina dalla placenta stimoli i recettori centrali che regolano la pressione arteriosa e/o la frequenza cardiaca determinando ipertensione, che a sua volta causa ipossia placentare ed un ulteriore rilascio di leptina. Sebbene queste vie sembrino un circolo vizioso, l'esatto meccanismo sottostante l'incremento della leptina plasmatica nella preeclampsia ed il ruolo funzionale della leptina nello sviluppo dell'ipertensione aspetta ancora ulteriori chiarimenti. Studi sfuturi dovrebbero focalizzare l'uso della leptina come marker di screening per le donne che sono ad alto rischio di preeclampsia.

Bibliografia

1. Saylan F, Köken G, Cosar E, Köken T, Saylan A, Ariöz DT, Sahin F, Köken R, Yilmazer M. Maternal and fetal leptin and ghrelin levels: relationship with fetal growth. Arch Gynecol Obstet. 2010 Sep 10. [Epub ahead of print].
2. Bomba-Opon D, Horosz E, Szymanska M, Wielgos M. Maternal plasma adipokines and insulin concentrations in relation to fetal biometry in the gestational diabetes. Neuro Endocrinol Lett. 2010 Aug 30;31(4). [Epub ahead of print].
3. Bomba-Opon D, Wielgos M, Horosz E, Bartkowiak R, Kosinski P, Bochenska K. Placental first trimester's measurements in relation to maternal plasma adiponectin, leptin and insulin concentrations. Neuro Endocrinol Lett. 2010 Aug 30;31(4). [Epub ahead of print].
4. Misra VK, Trudeau S. The Influence of Overweight and Obesity on Longitudinal Trends in Maternal Serum Leptin Levels During Pregnancy. Obesity (Silver Spring). 2010 Aug 19. [Epub ahead of print].
5. Manuel-Apolinar L, Zarate A, Rocha L, Hernández M. Fetal

- malnutrition affects hypothalamic leptin receptor expression after birth in male mice. *Arch Med Res*. 2010 May;41(4):240-5.
6. Farley DM, Choi J, Dudley DJ, Li C, Jenkins SL, Myatt L, Nathanielsz PW. Placental amino acid transport and placental leptin resistance in pregnancies complicated by maternal obesity. *Placenta*. 2010 Aug;31(8):718-24. Epub 2010 Jul 7.
 7. Heltemes A, Gingery A, Soldner EL, Bozadjieva N, Jahr KN, Johnson BK, Gilbert JS. Chronic placental ischemia alters amniotic fluid milieu and results in impaired glucose tolerance, insulin resistance and hyperleptinemia in young rats. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2010 Jul;235(7):892-9.
 8. Fattah C, Barry S, O'connor N, Farah N, Stuart B, Turner MJ. Maternal leptin and body composition in the first trimester of pregnancy. *Gynecol Endocrinol*. 2010 Jun 9. [Epub ahead of print].
 9. Iftikhar U, Iqbal A, Shakoor S. Relationship between leptin and lipids during pre-eclampsia. *J Pak Med Assoc*. 2010 Jun;60(6):432-5.
 10. Fontana VA, Sanchez M, Cebal E, Calvo JC. Interleukin-1 beta regulates metalloproteinase activity and leptin secretion in a cytotrophoblast model. *BioCELL*. 2010 Apr;34(1):37-43.
 11. Señaris R, Garcia-Caballero T, Casabiell X, Gallego R, Castro R, Considine RV, Dieguez C, Casanueva FF. Synthesis of leptin in human placenta. *Endocrinology*. 1997 Oct;138(10):4501-4.
 12. Fattah C, Barry S, O'connor N, Farah N, Stuart B, Turner MJ. Maternal leptin and body composition in the first trimester of pregnancy. *Gynecol Endocrinol*. 2010 Jun 9. [Epub ahead of print].
 13. Fattah C, Barry S, O'connor N, Farah N, Stuart B, Turner MJ. Maternal leptin and body composition in the first trimester of pregnancy. *Gynecol Endocrinol*. 2010 Jun 9. [Epub ahead of print].
 14. Antczak M, Van Blerkom J. The vascular character of ovarian follicular granulosa cells: phenotypic and functional evidence for an endothelial-like cell population. *Hum Reprod*. 2000 Nov;15(11):2306-18.
 15. De los Santos MJ, Mercader A, Francés A, Portolés E, Remohí J, Pellicer A, Simón C. Role of endometrial factors in regulating secretion of components of the immunoreactive human embryonic interleukin-1 system during embryonic development. *Biol Reprod*. 1996 Mar;54(3):563-74.
 16. Señaris R, Garcia-Caballero T, Casabiell X, Gallego R, Castro R, Considine RV, Dieguez C, Casanueva FF. Synthesis of leptin in human placenta. *Endocrinology*. 1997 Oct;138(10):4501-4.
 17. Bischof P, Campana A. Trophoblast differentiation and invasion: its significance for human embryo implantation. *Early Pregnancy*. 1997 Jun;3(2):81-95.
 18. Butte NF, Hopkinson JM, Ellis KJ, Wong WW, Smith EO. Changes in fat-free mass and fat mass in postpartum women: a comparison of body composition models. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1997 Oct;21(10):874-80.
 19. Casabiell X, Piñeiro V, Tomé MA, Peinó R, Diéguez C, Casanueva FF. Presence of leptin in colostrum and/or breast milk from lactating mothers: a potential role in the regulation of neonatal food intake. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997 Dec;82(12):4270-3.
 20. Hardie L, Trayhurn P, Abramovich D, Fowler P. Circulating leptin in women: a longitudinal study in the menstrual cycle and during pregnancy. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1997 Jul;47(1):101-6.
 21. Shimizu H, Shimomura Y, Hayashi R, Ohtani K, Sato N, Futawatari T, Mori M. Serum leptin concentration is associated with total body fat mass, but not abdominal fat distribution. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1997 Jul;21(7):536-41.
 22. Schubring C, Kiess W, Englaro P, Rascher W, Dötsch J, Hanitsch S, Attanasio A, Blum WF. Levels of leptin in maternal serum, amniotic fluid, and arterial and venous cord blood: relation to neonatal and placental weight. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997 May;82(5):1480-3.
 23. Koistinen HA, Koivisto VA, Andersson S, Karonen SL, Kontula K, Oksanen L, Teramo KA. Leptin concentration in cord blood correlates with intrauterine growth. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997 Oct;82(10):3328-30.
 24. Helland IB, Reseland JE, Saugstad OD, Drevon CA. Leptin levels in pregnant women and newborn infants: gender differences and reduction during the neonatal period. *Pediatrics*. 1998 Mar;101(3):E12.
 25. Mantzoros CS, Varvarigou A, Kaklamani VG, Beratis NG, Flier JS. Effect of birth weight and maternal smoking on cord blood leptin concentrations of full-term and preterm newborns. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997 Sep;82(9):2856-61.
 26. Luoh SM, Di Marco F, Levin N, Armanini M, Xie MH, Nelson C, Bennett GL, Williams M, Spencer SA, Gurney A, de Sauvage FJ. Cloning and characterization of a human leptin receptor using a biologically active leptin immunoadhesin. *J Mol Endocrinol*. 1997 Feb;18(1):77-85.
 27. Mise H, Sagawa N, Matsumoto T, Yura S, Nanno H, Itoh H, Mori T, Masuzaki H, Hosoda K, Ogawa Y, Nakao K. Augmented placental production of leptin in preeclampsia: possible involvement of placental hypoxia. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998 Sep;83(9):3225-9.
 28. Anato V, Garmendia JV, Bianco NE, De Sanctis JB. Antihypertensive treatment decreased serum leptin levels in severe preeclampsia during pregnancy. *Ann Nutr Metab* 2001;45:190-2.
 29. Anim-Nyame N, Sooranna SR, Steer PJ, Johnson MR. Longitudinal analysis of maternal plasma leptin concentrations during normal pregnancy and preeclampsia. *Hum Reprod* 2000;15:2033-6.
 30. Chan TF, Su JH, Chung YF, et al. Elevated amniotic fluid leptin levels in pregnant women who are destined to develop preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2006; 85:171-4.
 31. Masuyama H, Nakatsukasa H, Takamoto N, Hiramatsu Y. Correlation between soluble endoglin, vascular endothelial growth factor receptor-1, and adipocytokines in preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:2672-9.
 32. Bartha JL, Romero-Carmona R, Escobar-Llompant M, Comino-Delgado R. The relationships between leptin and inflammatory cytokines in women with pre-eclampsia. *BJOG* 2001;108:1272-6.
 33. Vitoratos N, Chrystodoulacos G, Kouskouni E, Salamalekis E, Creatsas G. Alterations of maternal and fetal leptin concentrations in hypertensive disorders of pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001; 96:59-62.
 34. Hendler I, Blackwell SC, Mehta SH, et al. The levels of leptin, adiponectin, and resistin in normal weight, overweight, and obese pregnant women with and without preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2005;193:979-83.