

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ

**AMNİYOTİK SIVI LEPTİN, İNSÜLİN VE ENDOTELİN DÜZEYLERİ
İLE GESTASYONEL DİABET VE ERKEN MEMBRAN RÜPTÜRÜ
ARASINDAKİ İLİŞKİ**

Proje No:2366

Normal araştırma projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:
Prof.Dr.Mehmet TAYYAR
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

Dr.Ahter TAYYAR
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

Ocak 2014

KAYSERİ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	1
ABSTRACT	1
1. GİRİŞ / AMAÇ VE KAPSAM	2
2.GENEL BİLGİLER	2
3. GEREÇ VE YÖNTEM	3
4. BULGULAR	3
5.TARTIŞMA VE SONUÇ	4
6.KAYNAKLAR	6

Özet

Amaç. Bu çalışmanın amacı midtrimester amniyotik sıvıda leptin ve insülin düzeylerini inceleyerek bunların daha sonraki dönemde gestasyonel diabetes mellitus ve erken membran rüptürü gelişen olguları tahmin etmede faydalı olup olamayacağını araştırmaktır. **Yöntem.** Genetik amniyosentezle 16-20 haftalık gebelerden alınan amniyotik sıvı örneklerinde leptin ve insülin düzeylerini araştırdık. Prospektif takiplerde gestasyonel diabetes mellitus veya erken membran rüptürü gelişen ve sağlıklı gebelik sürdüren hastaları kaydettik.

Bulgular. Gestasyonel diabetes mellitus gelişen grupta amniyotik sıvı leptin (17,3 ng/mL) ve insülin (3,4 ng/mL) düzeyleri kontrol grubunun amniyotik sıvı leptin (10,1 ng/mL) ile amniyotik sıvı insülin (1,7 ng/dL) düzeylerine göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. Erken membran rüptürü grubunda AS leptin düzeyi $16,2 \pm 2,1$ ng/ml, kontrol grubunda ise $8,4 \pm 1,2$ ng/ml olarak saptanmıştır. Erken membran rüptürü grubunda AS leptin düzeyi istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p < 0,05$) AS endotelin düzeyi erken membran rüptürü grubunda $34,1 \pm 2,1$ pg/ml, kontrol grubunda ise $24,2 \pm 1,5$ pg/ml olarak tespit edilmiştir. Endotelin düzeyi erken membran rüptürü grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olarak bulunmuştur. ($p < 0,05$) **Sonuç.** Amniyotik sıvı'da henüz gestasyonel diabetes mellitus bulguları ortaya çıkmadan leptin ve insülin düzeylerinin yüksek bulunması bu proteinlerin gestasyonel diabetes mellitusu ve erken membran rüptürünü önceden tahmin etmede kullanılabileceği kanısını vermektedir.

Anahtar sözcükler: Amniyotik sıvı, leptin, insulin

Abstract

Aim. The aim of this study is to investigate whether amniotic fluid leptin and insulin levels can be used for prediction of for prediction of gestational diabetes mellitus, premature preterm rupture of membranes(PPROM) or not. **Methods.** The levels of leptin and insulin were measured in the samples of amniotic fluid which were obtained at 16-20 weeks of pregnancy during genetic amniocentesis. We recorded the patients who developed gestational diabetes mellitus and who had healthy gestation.

Results. Amniotic fluid leptin (17.3 ng/mL) and insulin (3.4 ng/mL) levels were significantly increased in gestational diabetes mellitus group as compared to control group's amniotic fluid(AF) leptin (10.1 ng/mL) and amniotic fluid insülin (1.7 mg/mL) levels. AF leptin levels in PPRM group $16,2 \pm 2,1$ ng/ml and in control group $8,4 \pm 1,2$ ng/ml. ($p < 0,05$) AF endothelin levels in PPRM group is $34,1 \pm 2,1$ pg/ml and in control group $24,2 \pm 1,5$ pg/ml($p < 0,05$) **Conclusion.** Increased levels of amniotic fluid leptin and insulin levels before gestational diabetes mellitus symptoms gives the idea that these proteins can be used as predictors for gestational diabetes mellitusand premetur preterm rupture of membranes.

Keywords: Amniotic fluid, leptin, insulin

GİRİŞ-AMAÇ VE KAPSAM

Gestasyonel diabetes mellitus (GDM) gebelik esnasında hiperglisemi ortaya çıkması ve artan glukozun fetusa geçip onun gelişimini etkilemesiyle karakterizedir. Fetusun %50-80 glukoz ihtiyacı maternal kordon vasıtasıyla karşılanırken, %10-15'lik kısmı ise amniyotik sıvı (AS) yutmasıyla sağlanır [1, 2]. GDM fetusu olumsuz yönde etkileyebilmektedir. GDM AS'deki albümine irreverzible oksidatif hasar verir ve laktik asidemi ve fetal hipoksiye sebep olabilir. Ayrıca ketogeneze değişim ve beta hidrosibutirat konsantrasyonunda artışa neden olur. Sonuçta glukoneogenez artar, ürik asit artar ve hipoksiye sebep olabilir [3-7]. İnsülin pankreasta beta hücrelerden salgılanan bir hormondur ve kandan glukozun hücreye alınmasını sağlar. Fetusta insülin salgısı 11. haftada başlamaktadır ve diabetli gebelerde fetal insülinin arttığı gösterilmiştir. Ayrıca bu artışın glukoz düzeyindeki artışla paralellik gösterdiği de saptanmıştır [8]. Leptin sitokinlere benzeyen, 167 aminoasit içeren protein yapısında hormondur. Gebelikte maternal düzeyi midtrimester sonuna kadar artmakta daha sonra doğuma kadar azalmaktadır. Enerji metabolizmasındaki düzenleyici rolü nedeni ile leptin gebelik ve laktasyon süresince maternal adaptasyonda rol almaktadır. İnsülin ise leptinin bu fonksiyonları üzerinde etkilidir. GDM olgularında kord leptin düzeyide yüksektir. AS'de ise sağlıklı gebelerde midtrimester leptin düzeyi terme göre daha fazla bulunmuştur [8-11].

Erken membran rüptürü gebelikte sık karşılaşılan problemlerden biridir. Amniyotik ve koryonik membranlarla çevrili olan amniyon mayi fetusun solunum sisteminin gelişimi, ısı transferi, umbilikal kordon serbest hareketliliği ve fetusun travmalardan korunmasında kritik rol oynar ve fetüsü vajenden kaynaklanan mikroorganizmalardan korur. Ancak membran rüptürü ile bu bariyer bozulmakta, amniyon mayi volumu azalmakta, hem anne hem de fetusta obstetrik morbidite ve mortalitede artış gözlenmektedir. Membran rüptürü daha çok termde olmak üzere tüm gebeliklerin yaklaşık %2-10'unda görülür. Amniyotik sıvıda inflamasyon göstergesi olabilecek endotelin düzeyleri erken membran rüptürü gelişecek gebelerde daha yüksek oranda bulunabilir.

Biz bu çalışmada midtrimester AS leptin, endotelin ve insülin düzeylerini inceleyerek bunların daha sonraki süreçte GDM veya erken membrane rupture gelişen olguları tahmin etmede faydalı olup olamayacağını araştırmak istedik.

GENEL BİLGİLER

Gestasyonel diabetes mellitus (GDM) gebelik esnasında hiperglisemi ortaya çıkması ve artan glukozun fetusa geçip onun gelişimini etkilemesiyle karakterizedir. Fetusun %50-80 glukoz ihtiyacı maternal kordon vasıtasıyla karşılanırken, %10-15'lik kısmı ise amniyotik sıvı (AS) yutmasıyla sağlanır [1, 2]. GDM fetusu olumsuz yönde etkileyebilmektedir. GDM AS'deki albümine irreverzible oksidatif hasar verir ve laktik asidemi ve fetal hipoksiye sebep olabilir. Ayrıca ketogeneze değişim ve beta hidrosibutirat konsantrasyonunda artışa neden olur. Sonuçta glukoneogenez artar, ürik asit artar ve hipoksiye sebep olabilir [3-7]. İnsülin pankreasta beta hücrelerden salgılanan bir hormondur ve kandan glukozun hücreye alınmasını sağlar. Fetusta insülin salgısı 11. haftada başlamaktadır ve diabetli gebelerde fetal insülinin arttığı gösterilmiştir. Ayrıca bu artışın glukoz düzeyindeki artışla paralellik gösterdiği de saptanmıştır [8]. Leptin sitokinlere benzeyen, 167 aminoasit içeren protein yapısında hormondur. Gebelikte maternal düzeyi midtrimester sonuna kadar artmakta daha

sonra doğuma kadar azalmaktadır. Enerji metabolizmasındaki düzenleyici rolü nedeni ile leptin gebelik ve laktasyon süresince maternal adaptasyonda rol almaktadır. İnsülin ise leptinin bu fonksiyonları üzerinde etkilidir. GDM olgularında kord leptin düzeyide yüksektir. AS'de ise sağlıklı gebelerde midtrimester leptin düzeyi terme göre daha fazla bulunmuştur [8-11].

Erken membran rüptürü gebelikte sık karşılaşılan problemlerden biridir. Amniyotik ve koryonik membranlarla çevrili olan amniyon mayi fetusun solunum sisteminin gelişimi, ısı transferi, umbilikal kordun serbest hareketliliği ve fetusun travmalardan korunmasında kritik rol oynar ve fetüsü vajenden kaynaklanan mikroorganizmalardan korur. Ancak membran rüptürü ile bu bariyer bozulmakta, amniyon mayi volumu azalmakta, hem anne hem de fetusta obstetrik morbidite ve mortalitede artış gözlenmektedir. Membran rüptürü daha çok termde olmak üzere tüm gebeliklerin yaklaşık %2-10'unda görülür. Endotelin-1 amniyon hücreleri dahil endotelial hücrelerden salınan ve endojen vazokonstriktör etkisi olan bir amino asittir. Amniyotik sıvıda inflamasyon göstergesi olabilecek endotelin düzeyleri erken membran rüptürü gelişecek gebelerde daha yüksek oranda bulunabilir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamız 1 Ekim 2009-Mayıs 2010 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda genetik nedenlerle amniyosentez yapılan 16-20 haftalık gebelerde gerçekleştirildi. Bu olgularda amniyosentez endikasyonları kombine test, üçlü test ve dördü testte saptanan risklerdir. Gebelik takibinde saptanan fetal kayıp, preeklampsi, anormal karyotip durumlarında olgular çalışma kapsamından çıkartıldı. Erciyes Üniversitesi Etik Kurulu'nun onayından sonra çalışmaya alınan hastalardan izin alındı. Prospektif olarak takip edilen gebelerde GDM gelişen olgulardan çalışma grubu (n:12) ve komplikasyonsuz doğum yapanlardan kontrol grubu (n:46) oluşturuldu. Ayrıca erken membrane rupture açısından çalışma kapsamına alınan hastaların gebelik takipleri ve doğumları prospektif olarak kaydedildi. Erken membran rüptürü gelişen grup (11 olgu) ve komplikasyonsuz doğum yapan grup (52 olgu) oluşturuldu.

GDM tanısı önce 50 gr'lık postprandial glukoz testi ve ardından yapılan 3 saatlik 100 gr'lık oral glukoz tolerans testi ile konuldu. Alınan AS'den numune alınarak -70°C'de saklandı. Leptin düzeyi radioimmunoassay yöntemi ile Leptin-Ria-CT (DIA source Immuno Assays S.A. , Belçika) kiti kullanılarak, insülin düzeyi INS-Irma (DIA source Immuno Assays S.A. , Belçika) kiti, endotelin düzeyi yine radioimmuno assay yöntemiyle Endothelin-1 RIA (Phoenix Pharmaceuticals. Inc., A.B.D.) kiti kullanılarak ölçüldü. Bu kitlerin alımı Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından karşılandı.

İstatistiksel incelemelerde parite ve cinsiyet karşılaştırılması Ki kare testiyle diğer parametrelerin kıyaslanması ise Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı. P değeri 0,05 olarak belirlendi. İstatistik, Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows (12.0 version) programında yapıldı

BULGULAR

Araştırmamızda yaş, nulliparite, amniyosentez yapıldığında gebelik haftası, kız fetus oranı, doğum haftası yönünden GDM ve kontrol grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farklılık saptanmamıştır. Ancak doğum ağırlığı GDM grubunda yüksek bulunmuştur. (Tablo 1)

Tablo 1. Çalışma gruplarının bazı özellikleri.

	GDM grubu (n:12)	Kontrol grubu (n:46)	P değeri
Yaş (yıl)	37,2 ± 4,2	36,1 ± 3,8	>0,05
Nulliparite (%)	16,6	17,3	>0,05
Amniyosentez yapılan gebelik haftası	17,2 ± 0,9	18,4 ± 1,1	>0,05
Kız fetüs (%)	50	47,8	>0,05
Doğum haftası	37,6 ± 2,1	38,2 ± 2,2	>0,05
Doğum ağırlığı(gram)	3750 ± 480	3220 ± 340	<0,05

GDM: gestasyonel diabetes mellitus

Çalışmamızda GDM olan olguların yaş ortalaması 37,2 idi (Tablo 1). . GDM’li olgularımızın nulliparite oranı %16,6 idi (Tablo1). GDM olgularında amniyosentez yapıldığında gebelik haftası ortalama 17,2 olarak bulunmuştur. GDM olan olgularımızda kız fetus oranı %50 idi. Çalışmamızda GDM olgularının doğum haftası ortalama 37,6 olarak bulunmuştur. GDM olgularımızın doğum ağırlığı 3750 gr’dır. (Tablo 1) ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. AS’deki insülinin fetal kaynaklı olduğu bilinmektedir. 16-20. haftalarda fetal pankreasta insülin salgısının GDM’li hastalarda arttığı gösterilmiştir. Kronik insülin uygulaması leptin salgısını artırmaktadır ve diabetik kadınların plasentasında fazla miktarda saptanmıştır [13, 14]. Araştırmamızda GDM olgularında AS leptin ve insülin düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur.

Erken membran rupturu ve kontrol grubu arasında yapılan karşılaştırmalarda ise doğum haftası erken membran rüptürü grubunda 34,6± 2,8 hafta iken kontrol grubunda 38,5 ± 2,1 hafta olarak bulunmuştur ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır.(p<0,05) doğum ağırlıkları ise erken membran rüptürü grubu ve kontrol gruplarında sırasıyla 2400±310 gr ve 3010 ± 320 olarak bulunmuştur. Ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır.(p<0,05).

Erken membran rüptürü grubunda AS leptin düzeyi 16,2 ± 2,1 ng/ml, kontrol grubunda ise 8,4 ± 1.2 ng/ml olarak saptanmıştır. Erken membran rüptürü grubunda AS leptin düzeyi istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.(p<0,05) AS endotelin düzeyi erken membran rüptürü grubunda 34.1 ± 2.1 pg/ml, kontrol grubunda ise 24.2 ± 1.5 pg/ml olarak tespit edilmiştir. Endotelin düzeyi erken membran rüptürü grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olarak bulunmuştur. (p<0,05)

TARTIŞMA

Çalışmamızda GDM olan olguların yaş ortalaması 37,2 idi (Tablo 1). AS’de insülin düzeyini araştırarak Tisi ve ark. [10]’nin araştırmasında maternal yaş ortalaması 37,8 Carpenter ve ark. [8]’nin çalışmasında 38 idi. AS’de leptin ve insülin düzeylerini araştırarak D’ Anna ve ark. [12]’nin maternal yaş ortalaması 29,4’dü. Maternal yaş farklılıklarının amniyosentez endikasyonlarındaki değişkenlikten kaynaklandığı kanısındayız. GDM’li olgularımızın nulliparite oranı %16,6 idi (Tablo1). Konuyla ilgili benzer çalışmalarda bu oran bildirilmemiştir. Paritenin AS leptin ve insülin düzeylerine bilinen bir etkisi bulunmamaktadır. Araştırmamızda GDM olgularında amniyosentez yapıldığında gebelik haftası ortalama 17,2 olarak bulunmuştur (Tablo 1). Ortalama gebelik haftası Tisi ve ark. [10]’nin çalışmasında 15,3, Carpenter ve ark. [8]’nin araştırmasında 16, D’ Anna ve ark. [12]’nin çalışmasında 15,9 olarak saptanmıştır, bu bulgular bizimki ile benzerlik göstermektedir. GDM olan olgularımızda kız fetus oranı %50 idi (Tablo 1). Bu oran D’Anna ve ark. [12]’nin araştırmasında %53 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda GDM olgularının doğum haftası ortalama 37,6 olarak bulunmuştur (Tablo 1). Bu bulgu D’Anna ve ark. [12]’nin

araştırmasında 38,4, Tisi ve ark. [10]'nın çalışmasında 39 olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar bizim araştırmamızda saptadığımız ortalama doğum haftası ile benzerlik göstermektedir. GDM olgularımızın doğum ağırlığı 3750 gr'dır. (Tablo 1) ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. GDM olgularında doğum ağırlıklarının ortalamanın üzerinde olması beklenen bulgudur. Ortalama doğum ağırlığını D'Anna ve ark. [12] 3931 gr, Tisi ve ark. [10] ise 3581 gr olarak bildirmişlerdir. Bu bulgular bizim sonuçlarımızla uyumlu bulunmuştur. AS'deki insülinin fetal kaynaklı olduğu bilinmektedir. 16-20. haftalarda fetal pankreasta insülin salgısının GDM'li hastalarda arttığı gösterilmiştir. Kronik insülin uygulaması leptin salgısını artırmaktadır ve diabetik kadınların plasentasında fazla miktarda saptanmıştır [13, 14]. Midtrimesterdeki leptin sentezinin fetal gelişim için gerekli olduğu sanılmaktadır. Ancak fetal ağırlıkla AS leptin düzeyi arası ilişki tartışmalıdır [15, 16]. Diğer yandan cinsiyetin AS leptin düzeyine etkili olduğu, kızlarda daha yüksek düzey bulunduğu rapor edilmiştir [16]. Çalışmamızda GDM ve kontrol gruplarında cinsiyet dağılımı dengeli saptanmıştır. Midtrimestere kadar AS'nin temel kaynağı fetus değildir. 20. haftaya kadar fetal idrar AS'nin major kısmını oluşturmaz. Bu haftaya kadar alınan AS'nin büyük kısmı plasental kaynaklıdır. Ayrıca gebeliğin 14-17. haftasındaki AS leptin düzeyi termdeki seviyeden yüksektir ve maternal leptin ile paralellik göstermez. Bu bilgiler bize midtrimesterde AS'deki leptinin plasentadan kaynaklandığını göstermektedir [2, 9, 12]. Araştırmamızda GDM olgularında AS leptin ve insülin düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. D'Anna ve ark. [12] yaptıkları çalışmada benzer bulgu elde etmişlerdir. Sonuç olarak, GDM olgularında midtrimester AS leptin ve insülin düzeylerinin yüksek olması bize bu incelemenin GDM'yi önceden tahmin etmede kullanılabileceği kanısını vermektedir. Ancak bu konuda daha geniş serilerde araştırmanın yapılması ve cut-off sınırlarının belirlenmesi gerektiği de bir gerçektir. Diğer yandan midtrimester AS leptin düzeyinin preeklampsi gelişen hastalarda da yüksek bulunması nedeniyle insülin ile birlikte değerlendirilmesinin daha faydalı olacağı düşüncesini vermektedir.

Çalışmamızda erken membran rüptürü olgularının ortalama doğum haftası 34.6 ve ortalama doğum ağırlığı 2400 gr olarak bulunmuştur. Wang ve ark.'nın araştırmasında doğum haftası 33.6 ve fetal ağırlık 2040 gr bulunmuştur ve bu sonuçlar bizim bulgularımızla paralellik göstermektedir.

Çalışmamızda erken membran rüptürü olguların ortalama yaşı 38.4 ve nulliparite oranı %11 idi. Wang ve ark.'nın leptin ve endotelin-1 incelemesi yaptığı benzer çalışmada maternal yaş ortalaması 35, nulliparite oranı ise %17 olarak bulunmuştur. Chan ve ark.'nın yalnız leptin araştırdığı benzer çalışmada maternal yaş ortalaması 35.3, nulliparite oranı %25 olarak saptanmıştır. Margarit ve ark.'nın yine benzer konuda yalnız endotelin düzeyini araştırdığı çalışmada maternal yaş 36.2 olarak bulunmuş, parite ise bildirilmemiştir. Maternal yaş ortalamamız diğer çalışmalardakine benzemektedir. Paritenin ise araştırılan leptin ve endotelin-1 düzeylerine bilinen bir etkisi bulunmamaktadır.

Araştırmamızda erken membran rüptürü olan olgulardaki AS leptin düzeyini kontrol gruplarına nazaran daha yüksek saptadık. Chan ve ark. ile Wang ve ark. yaptıkları çalışmada benzer bulgular elde etmişlerdir. Bazı çalışmalarda tümör nekrotize edici faktör (TNF) alfa ve interlökin-6 gibi inflamatuvar sitokinlerin leptin gibi erken membran rüptürü gelişen hastalarda arttığı gösterilmiştir. İnflamasyonunda erken membran rüptürü patofizyolojisinde rol aldığı düşünülmektedir.

AS endotelin-1 düzeyi erken membran rüptürü grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Chan ve ark. ile Margarit ve ark.'nın araştırmalarında benzer sonuçlar elde edilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Beardsall K, Diderholm BM, Dunger DB. Insulin and carbohydrate metabolism. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2008; 22: 41-55.
2. Mulvihill SJ, Stone MM, Debas HT, Fonkalsrud EW. The role of amniotic fluid in fetal nutrition. *J Pediatr Surg* 1985; 20: 668-72.
3. Reece EA. The fetal and maternal consequences of gestational diabetes mellitus. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2010; 23: 199-203.
4. Boisvert MR, Koski KG, Skinner CD. Increased oxidative modifications of amniotic fluid albumin in pregnancies associated with gestational diabetes mellitus. *Anal Chem* 2010; 82: 1183-7.
5. Taricco E, Radaelli T, Rossi G, Nobile de Santis MS, Bulfamante GP, Avagliano L, Cetin I. Effects of gestational diabetes on fetal oxygen and glucose levels in vivo. *BJOG* 2009; 116: 1729-35.
6. Pappa KI, Anagnou NP, Salamalekis E, Bikouvarakis S, Maropoulos G, Anogianaki N, Evangelidou A, Koumantakis E. Gestational diabetes exhibits lack of carnitine deficiency despite relatively low carnitine levels and alterations in ketogenesis. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2005; 17: 63-8.
7. Roberts JM, Bodnar LM, Lain KY, Hubel CA, Markovic N, Ness RB, Powers RW. Uric acid is as important as proteinuria in identifying fetal risk in women with gestational hypertension. *Hypertension* 2005; 46: 1263-9.
8. Carpenter MW, Canick JA, Hogan JW, Shellum C, Somers M, Star JA. Amniotic fluid insulin at 14-20 weeks' gestation: association with later maternal glucose intolerance and birth macrosomia. *Diabetes Care* 2001; 24: 1259-63.
9. Henson MC, Castracane VD. Leptin in pregnancy: an update. *Biol Reprod* 2006; 74: 218-29.
10. Tisi DK, Burns DH, Luskey GW, Koski KG. Fetal exposure to altered amniotic fluid glucose, insulin, and insulin-like growth factor-binding protein 1 occurs before screening for gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2011; 1: 139-44.
11. Carpenter MW, Canick JA, Star J, Carr SR, Burke ME, Shahinian K. Fetal hyperinsulinism at 14-20 weeks and subsequent gestational diabetes. *Obstet Gynecol* 1996; 87: 89-93.
12. D'Anna R, Baviera G, Cannata ML, De Vivo A, Di Benedetto A, Corrado F. Midtrimester amniotic fluid leptin and insulin levels and subsequent gestational diabetes. *Gynecol Obstet Invest* 2007; 64: 65-8.
13. Star J, Canick JA, Palomaki GE, Carpenter MW, Saller DN Jr, Sung CJ, Tumber MB, Coustan DR. The relationship between second-trimester amniotic fluid insulin and glucose levels and subsequent gestational diabetes. *Prenat Diagn* 1997; 17: 149-54.
14. Weerasiri T, Riley SF, Sheedy MT, Walstab JE, Wein P. Amniotic fluid insulin values in

women with gestational diabetes as a predictor of emerging diabetes mellitus. Aust N Z J Obstet Gynaecol 1993; 33: 358-61.

15. Oktem O, Dedeoğlu N, Oymak Y, Sezen D, Köksal L, Pekin T, Gökaslan H, Kavak ZN. Maternal serum, amniotic fluid and cord leptin levels at term: their correlations with fetal weight. J Perinat Med 2004; 32: 266-71.

16. Cagnacci A, Arangino S, Caretto S, Mazza V, Volpe A. Sexual dimorphism in the levels