

احتمال پیشگویی خطر ابتلا به سندرم متابولیک پس از زایمان در بیماران مبتلا به دیابت بارداری بوسیله غلظت سرمی RBP4

حوریه ثقفی^{*}، ژیلا مقبولی^۱، خدیجه میرزایی^۱، کبری امیدفر^۱، فرزانه کریمی^۱، مظاهر رحمانی^۱، افسانه بشارتی^۱، باقر لاریجانی^۱

چکیده

مقدمه: شواهد موجود نشان می‌دهند که RBP4 (Retinol binding protein 4) نقش مهمی در تنظیم هموستاز گلوکز و حساسیت به انسولین دارد. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بین غلظت RBP4 پلاسما، دیابت بارداری و سندرم متابولیک پس از بارداری بود.

روش‌ها: این مطالعه مورد شاهدهی بر روی ۱۹۲ زن باردار (که ۹۲ نفر مبتلا به دیابت بارداری بودند) صورت گرفت. غربالگری با آزمون تحمل ۵۰ گرم گلوکز خوراکی انجام شد. دیابت بارداری با آزمون تحمل ۱۰۰ گرم گلوکز بارداری بر طبق معیار Sullivan و Mahan و در صورت وجود سطح گلوکز پلاسمایی بیش از ۱۳۰ mg/dl تشخیص داده شد. غلظت پلاسمایی RBP4 همه زنان باردار شرکت کننده در مطالعه اندازه گیری شد. منحنی ROC برای برآورد سطح آستانه غلظت RBP4 برای پیشگویی ابتلا به دیابت بارداری رسم گردید.

یافته‌ها: غلظت RBP4 در بیماران دیابت بارداری به طور معناداری نسبت به گروه کنترل بالاتر بود. رسم منحنی ROC نشان داد که سطح RBP4 برابر یا بیش از ۴۲ μ/ml، ابتلا به دیابت دوران بارداری را با حساسیت ۷۵/۸٪ و ویژگی ۶۵/۳٪ پیشگویی می‌کند (P=۰/۰۰۱). آنالیز رگرسیون مستقل از سن و نمایه توده بدنی نشان داد که دیابت بارداری و غلظت سرمی RBP4، ارتباط معنی داری دارند. بین بروز سندرم متابولیک پس از زایمان و سطح سرمی RBP4 در دوران بارداری ارتباط معناداری یافت نشد.

نتیجه گیری: سنجش RBP4 همراه با ارزیابی سایر عوامل خطر، می‌تواند در شناسایی زنان در معرض خطر ابتلا به دیابت بارداری، مفید باشد.

واژگان کلیدی: دیابت بارداری، RBP4، سندرم متابولیک پس از زایمان

۱- مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران

* **نشانی:** تهران، کارگر شمالی، بیمارستان شریعتی، طبقه پنجم، مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی.

تلفن: ۸۴۹۰۲۷۴۸، نمابر: ۸۸۲۲۰۰۵۲، پست الکترونیک: emrc@tums.ac.ir

مقدمه

بارداری، به طور فیزیولوژیک باعث ایجاد مقاومت به انسولین می شود. مقاومت به انسولین در این دوران از اهمیت بالایی برخوردار است زیرا تغییرات هورمونی با ایجاد شرایط دیابتوزیک، فرد را مستعد ابتلا به دیابت بارداری می کنند دیابت بارداری با شروع یا تشخیص اولیه عدم تحمل گلوکز در دوران بارداری تعریف می شود [۱، ۲]. به طور متوسط احتمال بروز دیابت بارداری ۸-۳٪ است [۱]. دیابت بارداری با ترشح جبرانی انسولین [۴ و ۵]، زمینه ابتلا به مقاومت به انسولین مزمن را ایجاد می کند [۳].

مطالعات طولانی مدت آینده نگر در زنان مبتلا به دیابت بارداری نشان داده اند که این افراد با احتمال بیشتری در سال های بعد زندگی به دیابت نوع ۲ مبتلا می شوند [۸-۶]. مطالعه بر روی زنان ایرانی نشان داده است که ۲۳٪ از زنان مبتلا به دیابت بارداری، به اختلال تحمل گلوکز (IGT) یا دیابت مبتلا شده اند [۹]. به علاوه، مطالعات اخیر نشان داده اند که دیابت بارداری خطر ایجاد پرفشاری خون و دیس لیپیدمی و در نتیجه افزایش احتمال ابتلا به آترواسکلروز و بیماری قلبی-عروقی را در طولانی مدت افزایش می دهد [۱۰ و ۱۱] که می تواند به سبب عوامل خطر مشترک موجود در هر دو بیماری باشد [۷ و ۶].

سازوکار ایجاد دیابت معلوم نشده، اما ارتباط زیادی با عوامل مرتبط با چاقی دارد [۱۵-۱۲]. ارتباط بین چاقی، مقاومت به انسولین و دیابت نوع ۲ به خوبی شناخته شده و در طولانی مدت پیامدهای ناگواری به دنبال دارد.

آدیپوکین ها، پروتئین هایی هستند که در بافت چربی توسط آدیپوسیت تولید و ترشح می شوند [۱۶]. تولید برخی آدیپوکین ها تحت تاثیر چاقی، دیابت نوع ۲ و سندرم متابولیک است. شواهد مختلفی پیشنهاد می کنند که RBP4، پپتید مشتق از چربی است که در تنظیم متابولیسم گلوکز نقش دارد و در نتیجه می تواند در مقاومت به انسولین نیز دخیل باشد [۱۷ و ۱۸].

با این وجود، ارتباط بین غلظت سرمی RBP4 و مقاومت به انسولین همچنان مورد بحث است [۲۱-۱۹]. برخی

مطالعات غلظت بالای RBP4 را در افراد چاق، مبتلا به اختلال تحمل گلوکز، دیابت نوع ۲ و افراد غیردیابتی با سابقه خانوادگی دیابت نوع ۲ گزارش کرده اند [۲۳-۲۱]. برخی محققان اثرات مستقیم RBP4 را در ایجاد حساسیت به انسولین از طریق تغییر تنظیم متابولیسم انسولین-گلوکز عضله اسکلتی، نشان داده اند [۲۴]. مطالعات اندکی درخصوص RBP4 زنان مبتلا به دیابت بارداری انجام شده است.

با توجه به این که دیابت دوران بارداری با مقاومت به انسولین تشخیص داده می شود [۲۷-۲۵] و زنان با سابقه دیابت بارداری در معرض خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ هستند [۲۸]، بنابراین بررسی ارتباط بین RBP4 و تغییرات وزن بدن، مقاومت انسولین و ترشح انسولین در دیابت بارداری ضروری به نظر می رسد.

این مطالعه به منظور ارزیابی ارتباط بین غلظت RBP4 پلاسما و دیابت بارداری طراحی شد. همچنین در مطالعه حاضر سعی شد ارتباط بین غلظت RBP4 و خطر سندرم متابولیک پس از بارداری بررسی شود.

روش ها

این مطالعه مورد-شاهدی بر روی ۱۹۲ زن باردار مراجعه کننده به پنج درمانگاه بیمارستان های آموزشی دانشگاه علوم پزشکی تهران از مهر ماه سال ۸۵ تا مرداد ماه سال ۸۷ انجام شد. پروتکل مطالعه بوسیله کمیته اخلاق مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم تایید شد. پس از دریافت رضایت نامه آگاهانه، زنان باردار جهت انجام غربالگری عمومی دیابت بارداری وارد مطالعه شدند. معیار خروج از مطالعه سابقه دیابت و دریافت مراقبت دوران بارداری در طول نیمه نخست بارداری بود. غربالگری شامل سابقه بیماری، تعیین سن بارداری، سابقه زایمان و انجام OGTT ۵۰ گرمی و OGTT ۱۰۰ گرمی بین هفته های ۲۴ و ۲۸ بارداری بود. در مورد زنانی که عوامل خطر دیابت بارداری را داشتند، غربالگری اولیه زودتر از زمان مذکور و در همان جلسه اول مراقبت بارداری انجام گرفت. عوامل

(TG) با روش آنزیماتیک اندازه گیری شد. مبنای تشخیص دیس لیپیدمی، وجود حداقل یک اختلال در موارد مذکور بود. معیار اصلی تشخیص دیابت، براساس تعریف انجمن دیابت آمریکا^(۱) (۲۰۰۴) [۳۰] سطح قند خون ناشتای (FBS) بیش از ۱۲۶mg/dl در نظر گرفته شد. همچنین سندرم متابولیک بر طبق معیار سازمان جهانی بهداشت تعریف شد [۳۱]. برای مقایسه شیوع متغیرها و فاکتورهای محدود کننده بین دو گروه از آزمون Chi-square استفاده شد. برای ارزیابی ارتباط بین غلظت RBP4 و سندرم متابولیک، مدل رگرسیون مورد استفاده قرار گرفت. در این مطالعه ارتباط بین سطح آستانه (Cut-off) سرمی RBP4 و خطر دیابت بارداری برآورد شد. همچنین ارتباط غیر خطی بین غلظت سرمی RBP4 و خطر ابتلا به دیابت بارداری با قرار دادن مدل‌های رگرسیون Logistic چند متغیره، با روش Generalized additive model بررسی شد. برای تمام آزمون‌ها سطح معناداری با احتمال کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در کل ۹۵ زن مبتلا به دیابت بارداری و ۹۷ زن سالم وارد مطالعه شدند. زنان مبتلا به دیابت بارداری در مقایسه با افراد سالم، سن و نمایه توده بدنی بالاتری داشتند. در بیماران مبتلا به دیابت بارداری؛ سطح گلوکز، TG، HDL و کلسترول تام سرمی ناشتا به طور معناداری بالاتر بود و نیز غلظت های سرمی RBP4 در آنها به طور معناداری بالاتر از گروه کنترل بود (P=۰/۰۰۱) (جدول ۱). برای برآورد سطح آستانه غلظت RBP4 به عنوان عامل پیشگویی کننده احتمال ابتلا به دیابت بارداری، منحنی ROC رسم شد. (شکل ۱). مقدار RBP4 برابر یا بیش از ۴۲ μ/ml پیشگویی دقیق تری برای خطر ابتلا به دیابت بارداری نشان داد (حساسیت ۷۵/۸٪ و ویژگی ۶۵/۳٪، P=۰/۰۰۱). غلظت سرمی RBP4 در ۷۲/۳٪ زنان چاق شرکت کننده در مطالعه بالاتر از ۴۲ μ/ml بود (P=۰/۰۰۴). ۶۵/۳٪ زنانی که

خطر شامل سن بالای ۳۰ سال، نمایه توده بدنی بیشتر از ۲۷ kg/m²، پلی اورى، گلوکوزوری، پروتئینوری، تعداد بارداری بیش از ۵، سابقه دیابت بارداری، سابقه دیابت، سابقه ماکروزمی، مرگ جنین بدون علت مشخص، سقط جنین مکرر و اختلال در بارداری‌های پیشین بود.

غربالگری ابتلا به دیابت بارداری با OGCT- ۵۰ گرمی در هفته های ۲۸-۲۴ بارداری بود که یک ساعت پس از دریافت مقدار ۵۰ گرم گلوکز در حالت غیرناشتا، انجام شد. زنان باردار توسط سطح گلوکز پلاسمای بیش از ۱۳۰mg/dl برای تشخیص قطعی دیابت بارداری تحت آزمون OGTT قرار گرفتند. نمونه گیری خون وریدی در ساعات ۱، ۲ و ۳ پس از دریافت ۱۰۰ گرم گلوکز به منظور ارزیابی سطح گلوکز خون انجام شد. بر اساس معیار Mahan و Sullivan سطح گلوکز خون به ترتیب برابر یا بیش از ۱۹۵، ۱۸۰، ۱۵۵ و ۱۴۰mg/dl در حداقل دو نوبت به عنوان دیابت بارداری تشخیص داده شد [۲۹]. سطح گلوکز با روش آنزیماتیک گلوکز اکسیداز و با ضریب پراکندگی^(۱) (cv) کمتر از ۵٪ اندازه گیری شد. سطح انسولین و c-peptide در نمونه های ناشتا ارزیابی شد. سطح انسولین با روش RIA^(۲) و با استفاده از کیت (Denmark) Biosorce انجام شد. ضریب تغییرات ارزیابی درون گروهی^(۳) و بین گروهی^(۴) به ترتیب ۸/۲٪ و ۷/۱٪ بود.

سطح RBP4 با روش ELISA با استفاده از کیت AdipoGen (Korea) به ترتیب با ضریب تغییرات ارزیابی درون گروهی و بین گروهی ۷/۱۲٪ و ۵/۰۴٪ ارزیابی شد. در همه نمونه ها سطح سرمی RBP4 بلافاصله پس از دریافت OGCT- ۵۰ گرمی اندازه گیری شد. نمونه های خون ناشتای افراد در طول هفته های ۱۲-۶ بارداری، برای اندازه گیری سطح گلوکز، کلسترول تام، تری گلیسرید و کلسترول HDL جمع آوری شد. سطوح کلسترول تام^(۵) (TC)، کلسترول با دانسیته بالا^(۶) (HDL) و تری گلیسرید^(۷)

- 1 -Coefficient of variation
- 2 -Radio immuno assay
- 3 -Inter-assay
- 4 -Intra-assay
- 5 -Total cholesterol
- 6 - High density cholesterol
- 7 - Triglyceride

پس از بارداری، ۳۲/۶٪ زنان باردار مبتلا به دیابت بارداری در مقایسه با ۱۰/۵٪ زنان با بارداری طبیعی به سندرم متابولیک مبتلا شدند ($P=0/001$). غلظت سرمی RBP4 دوران بارداری بالاتر از آستانه $42 \mu\text{ml}$ در ۶۹/۹٪ زنان مبتلا به سندرم متابولیک دیده شد که به طور معنی داری بالاتر از افراد سالم بود ($P=0/011$). با این وجود، در آنالیز رگرسیون پس از تطابق BMI و سن، این ارتباط بین سندرم متابولیک پس از زایمان و سطح سرمی RBP4 بالاتر از آستانه $42 \mu\text{ml}$ معنی دار نبود ($P=0/4$). همچنین این با وجود که ۶۶/۱٪ زنان چاق RBP4 بالاتر از $42 \mu\text{ml}$ داشتند، اما این همراهی معنی دار نبود ($P=0/2$).

HDL پایینی داشتند نیز RBP4 بیش از $42 \mu\text{ml}$ داشتند ($p=0/03$).

در آنالیز رگرسیون، ارتباط معناداری بین غلظت RBP4 و ابتلا به دیابت بارداری وجود داشت ($P=0/001$) که این ارتباط مستقل از سن و نمایه توده بدنی بود.

سندرم متابولیک پس از بارداری بر اساس معیارهای سازمان جهانی بهداشت ارزیابی گردید که بر این اساس، شیوع سندرم متابولیک در میان زنان شرکت کننده در مطالعه در هفته های ۱۲-۶ پس از بارداری، ۲۴٪ برآورد گردید (جدول ۲).

جدول ۱- مشخصات اصلی و شاخص های بیوشیمیایی زنان باردار

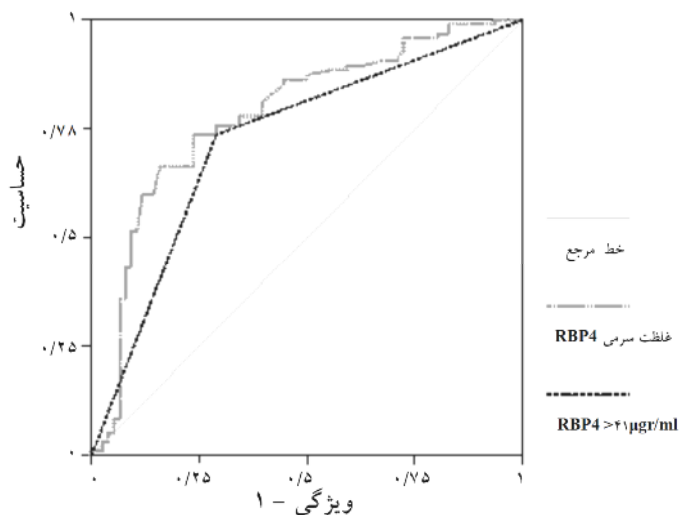
زنان سالم (n=100)	دیابت بارداری (n=92)	متغیرها*
27±7	32±5	سن (سال) ††
25/1±3/7	28/2±4/1	نمایه توده بدنی پیش از زایمان (kg/m^2) ††
81±11	108±55	گلوکز خون ناشتا (mg/dl) ††
0/37±0/14	0/49±0/13	RBP4 ($\mu\text{l/ml}$) ††
220±48	205±52	کلسترول تام (mg/dl) †
135±134	131±104	LDL (mg/dl) †
56±13	50±10	HDL (mg/dl) ††
209±78	201±85	TG (mg/dl) †
2/81±2/2	3/47±4/4	CRP (mg/l) †
5/4±1/7	5/5±1/3	HBA1C (%) †

*کلیه متغیرها به صورت انحراف معیار ± میانگین نشان داده شده است.

**کلیه میانگین ها با آزمون t student با هم مقایسه شدند.

† در مقایسه مقادیر P معنی دار نبود ($P \geq 0/05$).

†† در مقایسه مقادیر P معنی دار بود ($P \leq 0/05$).



شکل ۱- حساسیت و ویژگی غلظت RBP4 در پیشگویی ابتلا به دیابت بارداری

جدول ۲- مشخصات اصلی و شاخص های بیوشیمیایی پس از زایمان

متغیرها	زنان مبتلا به سندرم متابولیک (n=۱۴۶)	زنانی که شاخص ابتلا به سندرم متابولیک را نداشتند (n=۴۶)
سن (سال) *	۳۱±۵	۳۰±۶
نمایه توده بدنی (kg/m ²) †	۳۲/۶±۵/۲	۲۸/۶±۳/۹
گلوکز ناشتا (mg/dl) *	۱۰۳±۲۷	۹۰±۴۱
RBP4 (μl/ml) *	۰/۴۹±۰/۱۴	۰/۴۲±۰/۱۳
کلسترول تام (mg/dl) †	۲۳۵±۴۸	۲۰۴±۴۷
LDL (mg/dl) *	۱۴۵±۱۲۹	۱۲۴±۱۰۵
HDL (mg/dl) †	۵۱±۱۳	۵۵±۱۱
TG (mg/dl) *	۲۱۸±۷۵	۲۰۰±۸۰
CRP (mg/l) *	۴±۳/۹	۳/۳±۳/۸
HBA1C (%) *	۶±۲/۴	۵/۲±۱/۲

کلیه متغیرها به صورت انحراف معیار ± میانگین نشان داده شده است .

کلیه میانگین ها با آزمون student t با هم مقایسه شدند.

* در مقایسه مقادیر P معنی دار نبود (P ≥ ۰/۰۵).

† در مقایسه مقادیر P معنی دار بود (P ≤ ۰/۰۵).

بحث

فرایند تنظیم کاهشی^۱ GLUT4^۲ آدیپوسیت ها در مقاومت به انسولین، با افزایش ترشح RBP4 همراه است [۳۴-۲۴،۳۲]. البته این فرضیه در توضیح نقش RBP4 در افراد دیابتی دارای تناقض هایی بوده است. با این وجود شواهد متعددی از افزایش غلظت RBP4 در افراد چاق و مبتلا به دیابت نوع ۲ وجود دارد [۳۲ و ۳۶ و ۳۵]. بنابراین RBP4 به عنوان یک آدیپوکلین در تنظیم متابولیسم گلوکز و ترشح انسولین مطرح شده است [۱۸ و ۳۷ و ۳۸].

ارتباط بین دیابت بارداری و افزایش خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ شناخته شده است [۳۹،۴۰]. برخی مطالعات در این زمینه سطح سرمی RBP4 را در زنان بررسی نموده اند [۴۲،۴۱،۳۶]. Eldor و همکارانش گزارش کردند که غلظت سرمی RBP4 به طور معناداری در زنان باردار مبتلا به دیابت بارداری بالاتر بوده است [۴۳]. Chan و همکارانش افزایش سطح سرمی RBP4 را در زنان مبتلا به دیابت بارداری نشان دادند [۴۲]. همچنین، نتایج مشابهی با مطالعه ما در بررسی Choi و همکارانش روی زنان مبتلا به دیابت بارداری مشاهده شده که سطوح بالای سرمی RBP4 را در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند و این اختلافات از لحاظ آماری معنی دار بود.

گرچه سازوکار اصلی این افزایش مشخص نشده، اما به نظر می رسد که غلظت سرمی RBP4 تحت تاثیر تغییر وضعیت متابولیکی دوران بارداری در زنان مبتلا به دیابت بارداری تغییر کرده و این تغییرات با مقاومت به انسولین در این بیماران همراه است [۱۱،۲۶]. تغییرات برخی از عوامل هورمونی مانند مقادیر استروژن، پروژسترون، کورتیزول و لاکتوزن جفتی انسانی، گلوکاگون و لپتین با اختلالات متابولیکی در دیابت بارداری مرتبط می باشد [۴۴]. در این زمینه شواهد آشکاری از افزایش غلظت سرمی RBP4 را در مبتلایان به دیابت بارداری وجود دارد [۴۵].

همچنین بین چاقی، مقاومت به انسولین و آدیپوکلین های مرتبط با متابولیسم چربی و کربوهیدرات ارتباط وجود

دارد [۱۸] و نشان داده شده که تولید برخی آدیپوکلین ها در چاقی، دیابت نوع ۲ و سندرم متابولیک تحت تاثیر قرار می گیرند [۴۶]. بنابراین، افزایش RBP4 می تواند در پاتوفیزیولوژی دیابت نوع ۲ دخیل باشد [۴۶].

زنان مبتلا به دیابت بارداری در دوران پس از زایمان در معرض افزایش خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ می باشند [۴۸ و ۴۷] و سازوکار ایجاد دیابت در این افراد مشخص نیست، اما عوامل مرتبط با چاقی را به طور آشکاری در آن دخیل دانسته اند [۵۲-۴۹]. لذا بررسی ارتباط عوامل مرتبط با بافت چربی از جمله آدیپوکلین ها با استقرار دیابت نوع ۲ در این افراد می تواند در شناسایی پاتوفیزیولوژی بیماری نقش ارزنده ای داشته باشد.

نتایج این مطالعه نشان می دهند که سطح سرمی RBP4 بالاتر از آستانه $42 \mu\text{ml}$ ، می تواند ابتلا به دیابت بارداری را پیشگویی کند. غلظت RBP4 در $72/3\%$ زنان چاق و بیش از نیمی از زنانی که HDL پایین داشتند، بالاتر از سطح آستانه بدست آمد، در زنان مورد مطالعه افزایش غلظت RBP4 در دوران بارداری با افزایش خطر سندرم متابولیک پس از بارداری همراه بود، اما این ارتباط مستقل از متغیرهای بالقوه مثل سن و چاقی نبود. بنابر این به نظر می رسد که این اثر از طریق عوامل خطر سازی نظیر چاقی اعمال می گردد.

Antuna-Puente و همکارانش در مطالعه ای غلظت RBP4 را پس از زایمان در زنان مبتلا به دیابت بارداری بررسی کردند و ارتباط مثبت آن را با فشار خون سیستولی، غلظت انسولین ناشتا، چربی احشایی و شاخص مقاومت به انسولین یافتند. برای توضیح ارتباط بین غلظت بالای سرمی RBP4 و سندرم متابولیک در افراد مبتلا به بیماری های مختلف، شواهد بیشتری مورد نیاز است.

غلظت سرمی گلوکز و تری گلیسرید در حالت ناشتا، از عوامل مستقل تعیین کننده غلظت سرمی RBP4 هستند. بر این اساس پیشنهاد شده که غلظت بالای RBP4 با اختلال متابولیسم گلوکز در زنان با سابقه دیابت بارداری، ارتباط دارد [۴۶].

در مجموع مطالعه حاضر بیانگر سطح سرمی افزایش یافته RBP4 در زنان مبتلا به دیابت بارداری است و سطوح

1-Down regulation

2 - Glucose transporter 4

سپاسگزاری

صمیمانه از زحمات بی دریغ پرسنل آزمایشگاه مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران به ویژه سرکار خانم ها افسانه وثوق و صمیمه شهبازی سپاسگزاریم. هزینه مالی این طرح، از محل اعتبارات مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران تامین شد.

بالای این آدیپوکلین با شدت عدم تحمل گلوکز ارتباط داشته است [۴۶]. بر این اساس سطح سرمی RBP4 با آستانه بالاتر از $42 \mu\text{g/ml}$ ، امکان پیشگویی دیابت بارداری را داشته است.

اما در مورد ارتباط سطح سرمی RBP4 در دوران بارداری و خطر ابتلا به سندرم متابولیک پس از بارداری، نتایج مستقل از عوامل خطر ساز دیگر نبوده است. این یافته ها می توانند دلالت بر نقش غیر مستقیم این آدیپوکلین در پاتوفیزیولوژی سندرم متابولیک داشته باشد.

ماخذ

- Metzger BE, Coustan DR. Summary and recommendations of the Fourth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus: the Organizing Committee. *Diabetes Care* 1998; 21: B161-B167.
- World Health Organization Study Group. Prevention of Diabetes Mellitus. World Health Organization: Geneva, 1980; (Technical Report Series, No. 844).
- Catalano PM, Tyzbir ED, Wolfe RR, et al. Carbohydrate metabolism during pregnancy in control subjects and women with gestational diabetes. *Am J Physiol* 1993; 264: E60-E67.
- Di Cianni G, Miccoli R, Volpe L, Lencioni C, Del Prato S. Intermediate metabolism in normal pregnancy and in gestational diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2003; 19:259-270
- Thomas A. Buchanan and Anny H. Xiang. Gestational diabetes mellitus. *The Journal of Clinical Investigation* <http://www.jci.org> Volume 115 Number 3 March 2005; 485-491
- Kim C., Newton K.M., Knopp R.H. Gestational diabetes and the incidence of type 2 diabetes: a systematic review. *Diabetes Care* 2002; 25: 1862-1868.
- Ben-Haroush A, Yogeve Y, Hod M. Epidemiology of gestational diabetes mellitus and its association with type 2 diabetes. *Diabet Med* 2004; 21: 103-113.
- Kahn BB, Flier JS. Obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 2000;106:473-81.
- Hosseini-Nezhad A, Maghbooli Zh, Larijani B. The incidence of diabetes and abnormal glucose tolerance in women at early postpartum with previous gestational diabetes. *Iranian Journal of Diabetes and Lipid Disorders* 2004; 4: 27-34.
- Innes KE, Wimsatt JH. Pregnancy-induced hypertension and insulin resistance: evidence for a connection. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1999; 78:263-284
- Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia: ACOG practice bulletin no.33: American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol* 2002; 99:159-167 .
- Cho NH, Jang HC, Park HK, Cho YW. Waist circumference is the key risk factor for diabetes in Korean women with history of gestational diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2006; 71:177-183.
- Cho NH, Lim S, Jang HC, Park HK, Metzger BE 2005 Elevated homocysteine as a risk factor for the development of diabetes in women with a previous history of gestational diabetes mellitus: a 4-year prospective study. *Diabetes Care* 2005; 28:2750-2755.
- Jang HC, Yim CH, Han KO, Yoon HK, Han IK, Kim MY, Yang JH, Cho NH. Gestational diabetes mellitus in Korea: prevalence and prediction of glucose intolerance at early postpartum. *Diabetes Res Clin Pract* 2003; 61:117-124.
- Metzger BE, Cho NH, Roston SM, Radvany R. Prepregnancy weight and antepartum insulin secretion predict glucose tolerance five years after gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1993; 12:1598-1605.
- Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr* 2004; 92:347-55.
- Yang Q, Graham TE, Mody N, Preitner F, Peroni OD, Zabolotny JM, et al. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature* 2005; 436:356-62.
- Muoio DM, Newgard CB. Metabolism: A is for adipokine. *Nature* 2005;436:337-8.
- Janke J, Engeli S, Boschmann M, et al. Retinol-binding protein 4 in human obesity. *Diabetes* 2006; 55:2805-10.

20. Kautzky-Willer A, Prager R, Ludvik B, et al. Increased plasma leptin in gestational diabetes. *Diabetologia* 2001; 44:164–72.
21. Graham TE, Yang Q, Blüher M, et al. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. *N Engl J Med* 2006;354: 2552–63.
22. Yang Q, Graham TE, Mody N, et al. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature* 2005; 436:356–62.
23. Cho YM, Youn BS, Lee H, et al. Plasma retinol-binding protein-4 concentrations are elevated in human subjects with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2006; 29:2457–61.
24. Tamori Y, Sakaue H, Kasuga M. RBP4, an unexpected adipokine. *Nat Med* 2006; 12:30–1
25. Kuhl C. insulin secretion and insulin resistance in pregnancy and women with gestational diabetes. *Diabetes* 1991; 40 (Suppl 2): 18-24.
26. Ryan EA, Ó Sullivan MJ, Skyler JS. Insulin action during pregnancy. Studies with the euglycemic clamp technique. *Diabetes* 1985; 34: 380-389.
27. Kautzky-Willer A, Prager R, Waldhäusl W et al. Pronounced insulin resistance and inadequate B-cell secretion in lean gestational diabetes mellitus during and after pregnancy. *Diabetes Care* 1997; 20: 1717-1723.
28. Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, Johnson CL. Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999–2000. *JAMA* 2002;288: 1723–7.
29. O' Sullivan JB, Mahan CM, Charles D, Dandrow R. Screening criteria for high-risk gestational diabetic patients. *Am J Obstet Gynecol* 1973; 116: 895–900.
30. American Diabetes Association Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2004; 27(Suppl 1): S5-S10.
31. World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO consultation. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Geneva: WHO, 1999.
32. Ferrannini E., Gastaldelli A., Miyazaki Y., Matsuda M., Mari A., DeFronzo R.A., Beta-cell function in subjects spanning the range from normal glucose tolerance to overt diabetes: a new analysis, *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 493–500.
33. Shepherd PR, Kahn BB. Glucose transporters and insulin action—implications for insulin resistance and diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1999;341:248 - 57.
34. Stern MP, Haffner SM. Body fat distribution and hyperinsulinemia as risk factors for diabetes and cardiovascular disease. *Arteriosclerosis* 1986;6:123 - 30.
35. Paolisso G, Tataranni P.A., Foley J.E., Bogardus C., Howard B.V., Ravussin E. A high concentration of fasting plasma non-esterified fatty acids is a risk factor for the development of NIDDM. *Diabetologia* 1995; 38, 1213–1217.
36. Unger R.H., Zhou Y.T., Orci L., Regulation of fatty acid homeostasis in cells: novel role of leptin. *Proc Natl Acad Sci* 1999; 96: 2327–2332.
37. Konstantidines S, Schafer K, Koschnick S, Loskutoff DJ. Leptindependent platelet aggregation and arterial thrombosis suggests a mechanism of atherothrombotic disease in obesity. *J Clin Invest* 2001;108:1533–40.
38. Yamagishi SI, Edelstein D, Du XL, Kaneda Y, Guzman M, Brownlee M. Leptin induces mitochondrial superoxide production and monocytes chemoattractant protein- expression in aortic endothelial cells by increasing fatty acid oxidation via protein kinase A. *J Biol Chem* 2001;276:25096–100.
39. Cnop M., Welsh N., Jonas J.C., Jorns A., Lenzen S., Eizirik D.L. Mechanisms of pancreatic {beta}-cell death in type 1 and type 2 diabetes: many differences, few similarities. *Diabetes* 2005; 54 (Suppl 2): S97–S107.
40. Eizirik DL, Flodstrom M, Karlens A E, Welsh N, The harmony of the spheres: inducible nitric oxide synthase and related genes in pancreatic beta cells, *Diabetologia* 1996; 39: 875–890.
41. Chan C B, De Leo D, Joseph J W, McQuaid T S, Ha X F, Xu F, et al., Increased uncoupling protein-2 levels in beta-cells are associated with impaired glucose-stimulated insulin secretion: mechanism of action, *Diabetes* 2001; 50, 1302–1310.
42. Yamashita T, Eto K, Okazaki Y, Yamashita S, Yamauchi T, Sekine N, et al, Role of uncoupling protein-2 up-regulation and triglyceride accumulation in impaired glucose-stimulated insulin secretion in a beta-cell lipotoxicity model overexpressing sterol regulatory element-binding protein-1c. *Endocrinology* 2004; 145: 3566–3577.
43. Eldor R, Raz I. Lipotoxicity versus adipotoxicity—The deleterious effects of adipose tissue on beta cells in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2006; 74S: S3–S8
44. Sung Hee Choi, Soo Heon Kwak, Byung-Soo Youn, Soo Lim, Young Joo Park, Hyewon Lee, et al, High Plasma Retinol Binding Protein-4 and Low Plasma Adiponectin Concentrations are Associated with Severity of Glucose Intolerance in Women with Previous Gestational Diabetes Mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(8):3142-8.
45. Chan TF, Chen HS, Chen YC, Lee CH, Chou FH, Chen IJ, et al, Increased serum retinol-binding protein 4 concentrations in women with gestational diabetes mellitus. *Reprod Sci* 2007;14(2):169-74
46. Antuna-Puente B, Feve B, Fellahi S, Bastard J-P. Adipokines: The missing link between insulin resistance and obesity. *Diabetes and Metabolism* 2008; 34: 2–11

47. Lafontan M, Berlan M. Do regional differences in adipocyte biology provide new pathophysiological insights? *Trends Pharmacol Sci* 2003; 24:276–83.
48. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372:425–32.
49. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996;334:292–5.
50. Vidal H, Auboeuf D, De Vos P, Staels B, Riopu JP, Auwerx J, et al. The expression of ob gene is not acutely regulated by insulin and fasting in human abdominal subcutaneous adipose tissue. *J Clin Invest* 1996;98:251–5.
51. Loffreda S, Yang SQ, Lin HZ, Karp CL, Brengman ML, Wang DJ, et al. Leptin regulates proinflammatory immune responses. *FASEB J* 1998;12:57–65.
52. van Dielen FM, van't Veer C, Schols AM, Soeters PB, Buurman WA, Greve JW. Increased leptin concentrations correlate with increased concentrations of inflammatory markers in morbidly obese individuals. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001; 25:1759–66.

