

Expresión del receptor IGF1R y la vía de Akt en la placenta de recién nacidos pequeños para la edad gestacional

MARÍA LUISA LAZO DE LA VEGA MONROY¹, MARTHA ISABEL GONZÁLEZ DOMÍNGUEZ¹, LEONEL DAZA BENÍTEZ² Y GLORIA BARBOSA SABANERO^{1*}

¹Departamento de Ciencias Médicas, División de Ciencias de la Salud, Universidad de Guanajuato Campus León, León, Guanajuato;

²Unidad Médica de Alta Especialidad n.º 48, Instituto Mexicano del Seguro Social, León, Guanajuato

RESUMEN

Introducción: El peso bajo al nacer conlleva riesgos para el embarazo y favorece la aparición de enfermedades metabólicas en la vida adulta. La placenta es crucial para el crecimiento fetal, y se ha sugerido que los factores de crecimiento similares a insulina (IGF) participan en el crecimiento y función placentarios, posiblemente a través de la vía de señalización de la proteína cinasa B, (comúnmente conocida como Akt). Sin embargo, la regulación placentaria de la expresión de IGF y sus receptores, así como la activación de esta vía en alteraciones de peso al nacer, han sido poco estudiadas. **Objetivo:** Evaluar la expresión de los receptores IGF1R y el receptor de insulina (IR) y la activación de la vía de Akt en placentas de bebés de peso bajo para la edad gestacional (*small for gestational age* [SGA]) o peso adecuado (AGA). **Métodos:** Se realizó un estudio en placentas de madres sanas y recién nacidos a término SGA o AGA (n = 20 por grupo). La expresión de IGF1R e IR y la fosforilación de PDK1 fueron evaluadas mediante *western blot*. **Resultados:** Se observó una disminución de la expresión del IGF1R en el grupo

ABSTRACT

Introduction: Low birth weight not only represents risks for pregnancy but also favors metabolic diseases in adult life. Placental development is crucial for fetal growth, and it has been suggested that insulin-like growth factors (IGF) participate in placental growth and function, possibly through the Akt signaling pathway. However, placental regulation of IGFs and IGF receptor (IGFR) expression, as well as their signaling pathways in altered fetal weight, have been poorly studied. **Objective:** Evaluate IGF1R and insulin receptor (IR) expression and Akt pathway activation in placentas of small (SGA) and adequate (AGA) for gestational age newborns. **Materials and Methods:** A study in placentas of healthy mothers and term newborns, either SGA or AGA (n = 20 per group) was performed. Placental expression of IGF1R and IR, together with phosphoinositide-dependent kinase-1 (PDK1) phosphorylation was evaluated using Western Blot. **Results:** A positive correlation between birth weight and placental weight was found. We observed a significant decrease in IGF1R protein expression in the SGA group (p < 0.001) compared to AGA.

Dirección para correspondencia:

*Gloria Barbosa Sabanero

Departamento de Ciencias Médicas

Universidad de Guanajuato, Campus León

20 de Enero, 929

Col. Obregón, C.P.: 37320, León, Gto., México

E-mail: gloriabs70@hotmail.com

Fecha de recepción: 31-07-2014

Fecha de aceptación: 30-01-2015

SGA en comparación con AGA. La expresión de IR no se encontró modificada. La fosforilación de PDK1, enzima que activa Akt, se encontró disminuida en el grupo SGA. **Conclusiones:** La placenta de los bebés SGA presenta menor expresión de IGF1R y una consecuente disminución de PDK1 fosforilada, lo cual podría afectar al crecimiento y la función placentarios.

Palabras clave: IGF1R. Placenta. Bajo peso al nacer.

Insulin receptor protein expression was not modified. Phosphorylation of the enzyme needed for the Akt pathway activation, PDK1, was decreased in the SGA group ($p < 0.05$). **Conclusions:** Placenta of SGA newborns shows decreased IGF1R expression, and accordingly, a decrease in PDK1 phosphorylation, which may affect placental growth and function. (REV MEX ENDOCRINOL METAB NUTR. 2015;2:5-10)

Corresponding author: Gloria Barbosa Sabanero, gloriabs70@hotmail.com

Key words: IGF1R. Placenta. Small for gestational age.

INTRODUCCIÓN

El peso al nacer es un indicador importante de la salud del recién nacido¹. En las últimas décadas, diversas áreas de investigación han sugerido que los eventos implicados en el desarrollo fetal tienen efectos a largo plazo e influyen en la salud durante la vida adulta². El crecimiento fetal deficiente da lugar a niños SGA y a las complicaciones neonatales y de mortalidad derivadas de esta condición³. El peso bajo al nacer también se ha asociado con diversas consecuencias metabólicas a largo plazo⁴, como el síndrome metabólico⁵, la obesidad⁶, la diabetes *mellitus* tipo 2⁵ y enfermedades cardiovasculares⁷.

En el crecimiento intrauterino y el establecimiento del peso fetal participan una gran variedad de hormonas y moléculas de señalización, como el sistema IGF⁸. Este sistema abarca dos IGF: IGF-I e IGF-II, y por lo menos seis proteínas de unión al IGF (IGFBP)^{9,10}. Este sistema desempeña un papel importante en el crecimiento celular, la diferenciación y la mediación de las acciones de la hormona del crecimiento¹¹. Las concentraciones de IGF-I e IGFBP3 en la sangre del cordón umbilical se correlacionan con el peso fetal al nacer¹², mientras que las concentraciones de IGF-I en la sangre de la madre están disminuidas en niños SGA⁸.

El crecimiento de la placenta es esencial para un crecimiento fetal adecuado¹³, y existe evidencia de que el sistema IGF participa en el crecimiento y la función de la placenta, sugiriéndose que ejerce estas acciones a través de sus receptores, principalmente IGF1R e IR, el cual también posee afinidad por los IGF¹⁴, activando las vías de señalización de Akt y MAPK^{8,15} (Fig. 1). Dados estos antecedentes, el estudio del sistema IGF en la placenta es crucial para

la comprensión de los mecanismos que influyen en la regulación del peso al nacer⁸ y que tienen influencia en la salud metabólica durante la edad adulta. Sin embargo, la regulación placentaria de la expresión de IGF y sus receptores, así como la activación de sus vías de señalización en relación con el peso bajo al nacer, han sido poco estudiadas^{16,17}.

En este proyecto, se evaluó la expresión de los receptores IGF1R e IR, la activación de una proteína de la vía de Akt y su relación con el peso al nacer en placentas de recién nacidos SGA o AGA; se presentan los resultados preliminares.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población de estudio

Se realizó un estudio descriptivo, comparativo y transversal en placentas de madres sanas y recién nacidos a término SGA (bebés con peso por debajo del percentil 10 de peso normal para la población) o AGA (bebés con peso entre los percentiles 10 y 90 de peso normal para la población) ($n = 20$ por grupo)^{18,19} en el momento del nacimiento de la Unidad Médica de Alta Especialidad HGP n.º 48 del Instituto Mexicano del Seguro Social y el Hospital General Regional de León (HGRL), en Guanajuato. Todos los procedimientos fueron aprobados por los comités de ética e investigación correspondientes. Las madres y bebés participantes formaban parte de una cohorte previamente estudiada²⁰. Se consideraron para el estudio mujeres mayores de 18 años y menores de 35 con embarazo a término (edad gestacional de 37-41 semanas), sin diabetes *mellitus*, diabetes

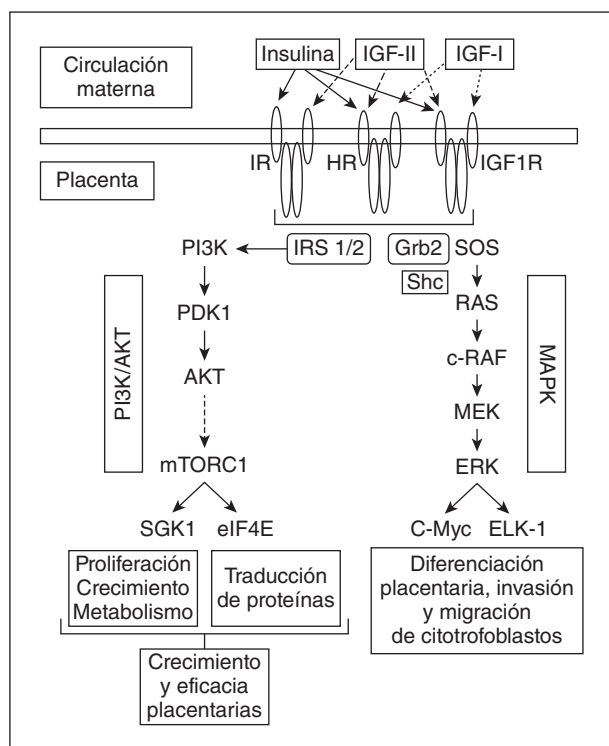


Figura 1. Vías de señalización que podrían participar en las funciones del sistema IGF en la placenta. IGF-I e IGF-II se unen a su receptor IGF1R, a partir de lo cual se genera una cascada de fosforilaciones, activando las vías de Akt y MAPK. Se ha sugerido que estas vías participan en el desarrollo, crecimiento y eficiencia de la placenta^{8,15}.

mellitus gestacional, enfermedad hipertensiva en el embarazo, síndrome de anticuerpos antifosfolípidos, enfermedades del tejido conectivo, enfermedades infecciosas crónicas, tabaquismo o alcoholismo durante el embarazo, con productos únicos. Los bebés nacieron por parto eutócico o cesárea, y no presentaron datos de sufrimiento fetal. De forma previa al trabajo de parto y previa firma del consentimiento informado, se examinó a mujeres sanas al final del embarazo y se obtuvieron, mediante un interrogatorio directo y a través del expediente, los datos generales de la madre (antecedentes de diabetes por ramas materna y paterna, enfermedades metabólicas e infecciosas, antecedentes ginecoobstétricos, fecha de la última menstruación, peso previo, peso actual y estatura), así como los datos antropométricos y clínicos del recién nacido (peso, talla, APGAR, sexo y edad gestacional). Inmediatamente después del parto o la cesárea se tomó una muestra transversal de placenta, la cual se almacenó a -70°C hasta el procesamiento del tejido.

Evaluación de la expresión proteica de IGF1R, el receptor de insulina y activación de la vía de Akt

La expresión placentaria de los receptores IGF1R e IR, y la activación de la vía de Akt evidenciada por la fosforilación de PDK, fueron evaluadas mediante *western blot*.

Se homogenizaron aproximadamente 100 mg de tejido placentario con un *polytron* en hielo, con 300 μl de amortiguador de lisis (50 mM de sal sódica del ácido N-[2-hidroxietil] piperazina-N'-etanosulfónico [HEPES], 50 mM de KCl, 320 mM de sacarosa, 1 mM de ácido etilendiaminotetraacético [EDTA], 1 mM de ditioneitol, 2 mM de ortovanadato de sodio, 25 de mM de NaF y 50 mM de pirofosfato de sodio) que contenía inhibidores de proteasas (mini complete ROCHE). Se centrifugó a 12,000 rpm durante 20 min a 4°C , y se recuperó el sobrenadante. Se realizó la cuantificación de proteínas por el método de Lowry²¹.

Las proteínas se separaron mediante electroforesis en geles de poli(acrilamida-dodecil sulfato de sodio (SDS) al 10%. Después de la electroforesis las proteínas se transfirieron a membranas de nitrocelulosa (Hybond-C Super, Amersham Pharmacia Biotech). La inmunodetección se realizó bloqueando la membrana con leche descremada (5%) durante 1 h a temperatura ambiente; posteriormente se incubó con el anticuerpo primario anti-IGF1R β , IR β o fosfo-PDK1 (1:1000, Cell Signaling) durante toda la noche a 4°C , y con el anticuerpo secundario anti-IgG de conejo (1:2000, Sigma-Aldrich) durante 1 h a temperatura ambiente. El revelado se realizó por quimioluminiscencia utilizando luminol como sustrato (ECL Plus Western Blotting Detection System). La expresión proteica se normalizó a la expresión de tubulina (1:8000, Sigma-Aldrich) y se cuantificó por densitometría utilizando el *software* Image Lab 3.0 (BioRad).

Análisis estadístico

Los resultados se presentan como medias $\pm$ desviación estándar o medianas y rangos cuartiles para los datos clínicos y como medias $\pm$ error estándar

para la expresión proteica. El análisis estadístico se realizó utilizando del *software* Statview V.4.5 (Abacus Concepts, Berkeley, CA, EE.UU.). Para evaluar las diferencias en la expresión de las proteínas en la placenta se realizó un ANOVA de dos vías. El análisis de correlación lineal entre variables se llevó a cabo utilizando los coeficientes de correlación de Pearson. Los valores de *p* menores a 0.05 fueron considerados como estadísticamente significativos.

RESULTADOS

Datos clínicos de la madre y el recién nacido

Fueron incluidas en el estudio un total de 40 madres con sus recién nacidos (20 SGA y 20 AGA). No se encontraron diferencias en la edad gestacional, el índice de masa corporal (IMC) ni la ganancia de peso materna entre los grupos (Tabla 1). Como se esperaba, se encontraron diferencias significativas entre el grupo SGA y AGA tanto en el peso al nacer como en el peso de la placenta (Tabla 1). Asimismo, se encontró una correlación directa significativa entre el peso al nacer y el de la placenta ($r = 0.806$; $p < 0.0001$).

Expresión proteica de los receptores IGF1R y el receptor de insulina

Siendo IGF1R el principal receptor para que IGF-I e IGF-II ejerzan sus acciones sobre sus tejidos blanco, analizamos la expresión de este receptor en las placentas AGA y SGA. La expresión de IGF1R se encontró disminuida significativamente en las placentas de recién nacidos SGA comparados con el grupo AGA (Fig. 2). El IR también posee afinidad por los IGF¹⁴, por lo cual evaluamos si su expresión se encontraba modificada en placentas de bebés SGA. El análisis preliminar no mostró una diferencia significativa en la cantidad de proteína del IR en el grupo SGA comparada con el grupo AGA (AGA: 101.175 ± 10.70 unidades arbitrarias [UA], SGA: 80.773 ± 7.04 UA; $p = 0.125$).

Tabla 1. Datos clínicos y somatométricos de las madres y los recién nacidos AGA y SGA (media $\pm$ desviación estándar; mediana [rango cuartil])

	AGA (n = 20)	SGA (n = 20)
Edad gestacional (semanas)	38.7 ± 1.1	38.2 ± 1.1
IMC pregestacional materno (kg/m ²)	$22.6 \pm 6.6^*$	$23.4 \pm 5.3^*$
Ganancia de peso materna (kg)	12.2 (10-17.6)	12 (10-13)
Peso del bebé (g)	$3,178.3 \pm 325.1$	$2,297 \pm 294.9^{\dagger}$
Peso de la placenta (g)	610.4 ± 106.4	$400.4 \pm 64.3^{*†}$

* $n = 19$.

[†] $p < 0.0001$ versus AGA.

Evaluación de la activación de PDK1

Por otro lado, se evaluó la expresión de la proteína PDK1 fosforilada, primer paso en la vía de Akt. En este análisis se encontró que la activación de PDK1 está disminuida en el grupo SGA comparada con el control (Fig. 3), lo que sugiere que la activación de la vía de señalización de Akt en la placenta puede estar disminuida en los recién nacidos SGA.

DISCUSIÓN

En los mamíferos, el factor determinante del crecimiento intrauterino es el suplemento de nutrientes al feto por medio de la placenta²², de modo que un crecimiento y eficiencia placentarios adecuados son esenciales en el establecimiento del peso al nacer¹³. Se ha reportado que el peso de la placenta, junto con la edad gestacional y la edad y el peso maternos, explica alrededor del 32% de la variabilidad del peso al nacer²³. Asimismo, el peso de la placenta se correlaciona con el peso y la talla durante la infancia²⁴. En el presente estudio encontramos que el peso al nacer se correlaciona directamente con el peso de la placenta, asociación que se ha reportado previamente en la literatura²⁴⁻²⁸.

El sistema IGF ejerce sus acciones a través de sus receptores, principalmente IGF1R e IR, y activando las vías de señalización de Akt y MAPK, por medio

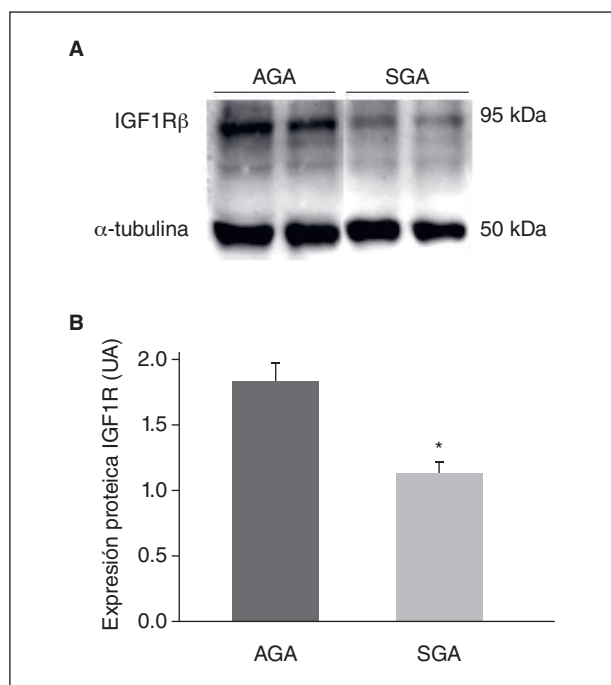


Figura 2. Expresión del receptor IGF1R en placentas AGA y SGA. **A:** inmunodetección representativa de la proteína de IGF1R. **B:** cuantificación de la abundancia proteica de IGF1R normalizada a la expresión de α -tubulina. Media $\pm$ ES.

* $p < 0.05$ comparado con AGA, $n = 20$ por grupo.

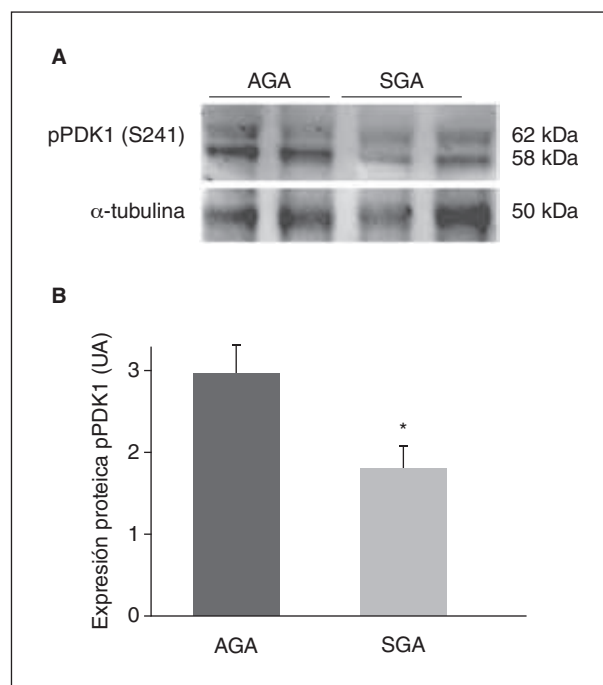


Figura 3. Expresión proteica de la forma fosforilada de la cinasa dependiente de fosfoinosítidos (pPDK1) en placentas AGA y SGA. **A:** inmunodetección representativa de la proteína fosforilada PDK1. **B:** cuantificación de la abundancia proteica de PDK1 fosforilada normalizada a la expresión de α -tubulina. Media $\pm$ ES.

* $p < 0.05$ comparado con AGA; $n = 20$ por grupo.

de las cuales, según se ha sugerido, modula el crecimiento y la eficiencia de la placenta^{8,15}. Para evaluar el efecto de estas vías en las alteraciones del peso al nacer, analizamos la expresión de los componentes principales de estas vías en homogenizados de placentas de recién nacidos SGA y AGA.

En estos análisis se evidenció que la expresión del receptor IGF1R se encuentra disminuida significativamente en placentas de recién nacidos SGA. Algunos estudios han evaluado la expresión de IGF1R en placentas de bebés con retardo del crecimiento intrauterino; sin embargo, los resultados han sido contradictorios, encontrándose tanto incremento¹⁷ como disminución¹⁶ en la expresión de IGF1R placentario. Por otro lado, hay evidencia de mutaciones en el gen de IGF1R que modifican su expresión o su actividad y se ha sugerido que son causa del retardo en el crecimiento intrauterino²⁹. Es posible que esta disminución en el IGF1R en la placenta pueda ser un factor asociado al bajo peso en el grupo SGA.

El receptor IGF1R posee una considerable homología con el IR en su estructura, de manera que IR también es capaz de unir a IGF, aunque con menor afinidad. Asimismo, IGF1R e IR activan las mismas vías de señalización de Akt y MAPK³⁰. Para evaluar si existe relación entre la expresión de IR y el peso al nacer, evaluamos la proteína de IR en placentas SGA y AGA. De forma preliminar, no observamos cambios en el IR en los grupos SGA comparados con el AGA, resultado que sugiere que el papel de la insulina en la diferencia de crecimiento de la placenta en embarazos a término puede ser menor comparado con el efecto de los IGF. Esto plantea la necesidad de realizar más estudios, con el fin de analizar cómo se encuentra la fosforilación de estos receptores en las placentas AGA y SGA.

Con el fin de evaluar si la vía de Akt pudiera estar alterada en el grupo SGA, evaluamos la activación por la fosforilación de PDK1 en Ser241, siendo ésta la cinasa que a su vez fosforila directamente a Akt para

su activación³¹. Acorde con la disminución en la expresión de IGF1R, la expresión de PDK1 fosforilada se encontró disminuida en el grupo SGA comparada con el grupo AGA. Estos resultados preliminares sugieren que la activación de la vía de señalización de Akt mediada por el receptor IGF1R podría estar disminuida en las placentas de los bebés SGA. Un análisis de la expresión y activación de Akt, así como de las moléculas blanco río abajo en la cascada de señalización, podría ayudar a elucidar el papel del receptor IGF1R sobre el establecimiento del peso al nacer y las consecuencias metabólicas en el futuro.

Estos resultados preliminares aportan evidencia sobre el papel del sistema IGF en la regulación del crecimiento placentario y el establecimiento del peso al nacer. Esta regulación podría estar alterada en los recién nacidos SGA debido a una baja en la expresión del receptor de IGF1R, lo cual posiblemente repercuta en modificaciones en la vía de señalización, y muy probablemente en la capacidad y eficiencia placentarias. Sin embargo, es necesario hacer más estudios para evaluar la expresión de las moléculas río abajo de la vía de señalización de Akt con el fin de corroborar la participación del receptor IGF1R y de esta vía en la regulación del crecimiento fetal.

AGRADECIMIENTOS

María Luisa Lazo de la Vega Monroy es becaria posdoctoral del Consejo Mexicano de Ciencia y Tecnología. Proyecto apoyado por la Universidad de Guanajuato (0095/13) y Fondos Mixtos Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología-Gobierno del Estado de Guanajuato (GTO-2012-C03-195238). Agradecemos al Dr. Cutberto Torres Torres y al Dr. Gabriel Corona Martínez del HGRL su apoyo invaluable.

BIBLIOGRAFÍA

- Fall CH, Yajnik CS, Rao S, Davies AA, Brown N, Farrant HJ. Micronutrients and fetal growth. *J Nutr*. 2003;133(5 Suppl 2):1747S-56S.
- Barker DJ. In utero programming of chronic disease. *Clin Sci (Lond)*. 1998;95(2):115-28.
- Das UG, Sysyn GD. Abnormal fetal growth: intrauterine growth retardation, small for gestational age, large for gestational age. *Pediatr Clin North Am*. 2004;51(3):639-54, viii.
- de Boo HA, Harding JE. The developmental origins of adult disease (Barker) hypothesis. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2006;46(1):4-14.
- Meas T. Fetal origins of insulin resistance and the metabolic syndrome: a key role for adipose tissue? *Diabetes Metab*. 2010;36(1):11-20.
- Morrison JL, Duffield JA, Muhlhausler BS, Gentili S, McMillen IC. Fetal growth restriction, catch-up growth and the early origins of insulin resistance and visceral obesity. *Pediatr Nephrol*. 2010;25(4):669-77.
- Xita N, Tsatsoulis A. Fetal origins of the metabolic syndrome. *Ann N Y Acad Sci*. 2010;1205:148-55.
- Sferruzzi-Perri AN, Owens JA, Pringle KG, Roberts CT. The neglected role of insulin-like growth factors in the maternal circulation regulating fetal growth. *J Physiol*. 2011;589(Pt 1):7-20.
- Harrela M, Koistinen H, Kaprio J, et al. Genetic and environmental components of interindividual variation in circulating levels of IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, and IGFBP-3. *J Clin Invest*. 1996;98(11):2612-5.
- Kajantie E, Fall CH, Seppala M, et al. Serum insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-1 in elderly people: relationships with cardiovascular risk factors, body composition, size at birth, and childhood growth. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(3):1059-65.
- The Belmont Report: Ethical principles and guidelines for the protection of human subjects of research: The National Commission for the Protection of Human Subjects of Biomedical and Behavioral Research, 1979.
- Giudice LC, de Zegher F, Gargosky SE, et al. Insulin-like growth factors and their binding proteins in the term and preterm human fetus and neonate with normal and extremes of intrauterine growth. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995;80(5):1548-55.
- Murphy VE, Smith R, Giles WB, Clifton VL. Endocrine regulation of human fetal growth: the role of the mother, placenta, and fetus. *Endocr Rev*. 2006;27(2):141-69.
- Cohen P. Overview of the IGF-I system. *Horm Res*. 2006;65 Suppl 1:3-8.
- Forbes K, Westwood M. Maternal growth factor regulation of human placental development and fetal growth. *J Endocrinol*. 2010;207(1):1-16.
- Laviola L, Perrini S, Belsanti G, et al. Intrauterine growth restriction in humans is associated with abnormalities in placental insulin-like growth factor signaling. *Endocrinology*. 2005;146(3):1498-505.
- Iniguez G, Gonzalez CA, Argandona F, Kakarieka E, Johnson MC, Casorla F. Expression and protein content of IGF-I and IGF-I receptor in placentas from small, adequate and large for gestational age newborns. *Horm Res Paediatr*. 2010;73(5):320-7.
- Flores-Huerta S, Martínez-Salgado H. Birth weight of male and female infants born in hospitals affiliated with the Instituto Mexicano del Seguro Social. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 2012;69:30-9.
- Jurado-García E. [Intrauterine growth. Correlation of body weight-height at birth as a function of gestational age]. *Gac Med Mex*. 1971;102(2):227-55.
- González-Domínguez MI, Lazo de la Vega-Monroy M-L, Zaina S, et al. Expresión del receptor de grelina en placentas de recién nacidos de peso bajo, adecuado y grande. *Revista Mexicana de Endocrinología, Metabolismo & Nutrición*. 2014;1:6-13.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951;193(1):265-75.
- Fowden AL, Sferruzzi-Perri AN, Coan PM, Constancia M, Burton GJ. Placental efficiency and adaptation: endocrine regulation. *J Physiol*. 2009;587(Pt 14):3459-72.
- Sanin LH, Lopez SR, Olivares ET, Terrazas MC, Silva MA, Carrillo ML. Relation between birth weight and placenta weight. *Biol Neonate*. 2001;80(2):113-7.
- Soliman AT, Eldabbagh M, Saleem W, Zahredin K, Shatla E, Adel A. Placental weight: relation to maternal weight and growth parameters of full-term babies at birth and during childhood. *J Trop Pediatr*. 2013;59(5):358-64.
- Haeussner E, Schmitz C, von Koch F, Frank HG. Birth weight correlates with size but not shape of the normal human placenta. *Placenta*. 2013;34(7):574-82.
- Panti AA, Ekele BA, Nwobodo EI, Yakubu A. The relationship between the weight of the placenta and birth weight of the neonate in a Nigerian Hospital. *Niger Med J*. 2012;53(2):80-4.
- Lo YF, Jeng MJ, Lee YS, Soong WJ, Hwang B. Placental weight and birth characteristics of healthy singleton newborns. *Acta Paediatr Taiwan*. 2002;43(1):21-5.
- Molteni RA, Stys SJ, Battaglia FC. Relationship of fetal and placental weight in human beings: fetal/placental weight ratios at various gestational ages and birth weight distributions. *J Reprod Med*. 1978;21(5):327-34.
- Klammt J, Kiess W, Pfaffle R. IGF1R mutations as cause of SGA. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2011;25(1):191-206.
- Hidden U, Glitzner E, Hartmann M, Desoye G. Insulin and the IGF system in the human placenta of normal and diabetic pregnancies. *J Anat*. 2009;215(1):60-8.
- Bayascas JR. PDK1: the major transducer of PI 3-kinase actions. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2010;346:9-29.