



مقایسه سطح سرمی لپتین و میزان تستوسترون در مردان بارور و نابارور

ابوالفضل جعفری^۱، ناهید مسعودیان^{۱*}، بستان رودی^۱، محمد نادرپور^۲

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

۲- اداره آموزش و پرورش شهرستان دامغان، استان سمنان، ایران

*مسئول مکاتبات: n.masoudian@damghaniau.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۴/۵/۲۱

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۱۷

چکیده

لپتین بعد از عبور از سد خونی - بیضوی و ورود به بیضه‌ها می‌تواند باعث کاهش یا مهار ترشح تستوسترون می‌شود و از طریق یک شبکه پاراکرینی می‌تواند ترشح گنادوتروپین‌ها را کنترل کند و نیز نقص لپتین یا مقاومت لپتینی می‌تواند باعث نقص شدید عملکرد سیستم تناسلی در مدل‌های انسانی و حیوانی شود. از آنجایی که لپتین اعمال فیزیولوژیکی خود را با واکنش با رسپتور لپتین انجام می‌دهد و نیز جهش در ژن کدکننده رسپتور لپتین باعث پایین آمدن غلظت تستوسترون سرم، عدم بلوغ جنسی نرمال و ناباروری می‌باشد. از سوی دیگر با در نظر گرفتن اینکه هیچ مطالعه‌ای به وضوح درباره بررسی رابطه‌ی هورمون‌های تستوسترون و لپتین در مردان بارور و نابارور انجام نشده است، در این پژوهش تأثیر لپتین بر تستوسترون در سرم مردان بارور و نابارور محاسبه گردید و بین آنها مقایسه انجام شد. الایزا به عنوان یکی از قدرتمندترین روش‌های آزمایشگاهی - تحقیقاتی در جهان مطرح می‌باشد و در شناسایی مقادیر بسیار کم هورمون‌ها و مولکول‌های حیاتی در پزشکی بالینی و آزمون‌های تحقیقاتی مورد استفاده می‌باشد. با استفاده از نتایج به دست آمده این بود که میزان تستوسترون در افراد نابارور بیشتر از افراد بارور است ولی میزان لپتین و در افراد بارور بیشتر از نابارور است. بنابراین تعیین استراتژی درمانی جهت درمان مردان نابارور می‌تواند استفاده از داروهای مؤثر و رژیم غذایی حاوی لپتین باشد.

کلمات کلیدی: لپتین، مردان بارور و نابارور، تستوسترون

مقدمه

تخمدان، اندومتر رحم، معده، هیپوتالاموس، هیپوفیز و دیگر ارگان‌ها تولید می‌شود و تأثیر مستقیم و غیرمستقیمی روی فعالیت متابولیکی ارگان‌ها و تنظیم چند محور اندوکرینی دارد [۸] ساختار پروتئینی لپتین از چهار آلفا هلیکس، یک سگمنت کوتاه و دو حلقه‌های پیچ‌ناپیچ نامنظم تشکیل شده است [۵]. ثابت شده که لپتین در فرآیندهای نظیر التهاب، آنژیوژنر، خونسازی، عملکرد سیستم ایمنی و تولید مثل به عنوان یک فاکتور هورمونی حیاتی ایفای نقش می‌کند [۷]. بر اساس نظر محققین ممکن است محتوای لیپیدی اسپرم بطور موضعی در دستگاه تناسلی مردانه تنظیم گردد. بنابراین احتمال دخالت هورمون لپتین با توجه به نقش آن در

داشتن فرزند یکی از آرزوهای درونی انسان‌هاست، لذا زوج‌ها نسبت به آن بسیار حساس می‌باشند. متأسفانه از هر شش زوج، یک زوج نابارور می‌باشد. در حدود ۴۵٪ ناباروری مربوط به فاکتورهای مردانه می‌باشد. عوامل متعددی سبب ناباروری در مردان می‌شوند که شامل موتاسیون‌های ژنی، بیماری‌های عفونی، انسداد واریس بیضه و تابش اشعه می‌باشند، ولی تقریباً ۵۰٪ مردان نابارور جزء گروه ایدیوپاتیکی در نظر گرفته می‌شوند و عامل مشخصی برای عدم باروری آنها مشخص نشده است [۱۰]. لپتین پروتئینی با ۱۶۷ اسید آمینه، که به‌طور عمده توسط بافت چربی و نیز در بافت‌هایی مثل جفت، غدد پستانی، بیضه‌ها،



اثرات آندروژنیک (جنسیتی) و آنابولیک (سازنده، رشد دهنده) دارد. تولید تستسترون پیش از دو ماهگی جنین در رحم مادر آغاز گشته و در تعیین نرینگی یا مادینگی آن نقش دارد. تولید این هورمون در دوره بلوغ جنسی افزایش یافته و عامل اصلی تغییرات فیزیکی این دوران به شمار می‌آید. به طور متوسط بدن هر مرد ۲۰ برابر بیشتر از بدن هر زن تستوسترون تولید می‌کند هرچند به دلیل متابولیسم بیشتر سطح پلاسمایی این هورمون در مردان فقط هفت برابر زنان است. تستسترون از هورمون‌های استروئیدی بدن است که ساختمان اصلی سازنده آن را کلسترول تشکیل می‌دهد [۹]. لپتین، مهار سریع و وابسته به دز تولید تستسترون القا شده با LH را در محیط کشت اعمال می‌کند [۱] و هم چنین مهار تستسترون القا شده با hCG، به موازات کاهش میزان آندروستون دیون و افزایش همزمان ۱۷-هیدروکسی پروژسترون، پروژسترون و پرگنولون همراه بود. بر اساس این یافته‌ها و دیگر مطالعات نشان داده شده که لپتین ترشح تستسترون را در انکوباسیون برش‌های تهیه شده از بیضه‌های رت‌های بالغ در محیط آزمایشگاهی مهار می‌کند، اما در رت‌های نابالغ خیر [۷، ۱۴]. این مشاهدات نشان می‌دهند که لپتین توانایی تعدیل شبکه پاراکرینی که ترشح استروئیدهای بیضوی القا شده با گنادوتروپین را عهده دار است، را دارد [۳]. Sharlip و همکارانش در سال ۲۰۰۲ بر روی بیماران obstructive azoosperma (OA)، بیماران دچار سندرم sertoly cell only (SCO) و بیماران دچار varicocele تحقیقات خود را انجام دادند و آن‌ها را با گروه کنترل مقایسه کردند. آن‌ها نشان دادند که میانگین اسپرم در گروه نرمال بطور چشمگیری بالاتر از سایر گروه‌ها بود، میزان تستوسترون در گروه (SCO) بطور قابل توجهی پایین تر از بقیه گروه‌ها بود. آن‌ها موفق شدند با روش تحلیل ایمونوهیستوشیمی، لپتین را در هر چهار گروه در سلول‌های لیدیک شناسایی کنند. بر طبق

متابولیسم لیپیدها با تحریک افزایش مصرف انرژی و کاهش دریافت غذا و به دنبال آن کاهش توده چربی بدن، و نیز نقش آن در کاهش کلسترول پلازما با کاهش فعالیت آنزیم هیدروکسی متیل گلو تاریل کواردوکتاز و افزایش فعالیت آنزیم‌های استرول ۲۷ هیدروکسیلاز و کلسترول ۷-آلفا هیدروکسیلاز، در متابولیسم لیپیدهای اسپرم مطرح می‌گردد از این رو احتمالاً تغییرات ژنتیکی آن بر باروری مردان موثر می‌باشد [۱۳]. اگرچه فاکتورهای مختلفی از جمله جنسیت، توده چربی، میزان توزیع چربی بدن، هورمون‌ها و سایتو کاین‌ها روی میزان ترشح لپتین نقش دارند، مهمترین فاکتور تعیین غلظت لپتین سرم، میزان دریافت کالری و انرژی دخیله شده در آدیپوسایت‌ها است، به گونه‌ای که غلظت لپتین بطور مستقیم در ارتباط با میزان چربی بدن است [۶].

لپتین نقش مهمی نیز در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز قدامی - غدد جنسی (HPG) ایفا می‌کند. در نوروهای تولید کننده هورمون GnRH در هیپوتالاموس رسپتور لپتین بیان می‌شود و نوروهای هسته Arcuate هیپوتالاموس میزان آزادسازی گنادوتروپین‌ها را با تحریک لپتین تنظیم می‌کنند [۱۱]. همچنین ثابت شده که لپتین با اثر بر گیرنده‌های خود در سلول‌های لیدیک تولید تستسترون را تنظیم می‌کند [۱۶]. به منظور درک اثرات اندوکرینی لپتین، تحقیقاتی بر روی موش‌های نردچار نقص ژنتیکی لپتین و نابارور انجام شد و نشان دادند که درمان این موش‌ها با لپتین سبب بازگشت توانایی تولید مثلی آن‌ها می‌شود [۲].

با در نظر گرفتن اینکه هیچ مطالعه‌ای درباره بررسی سطح سرمی در مردان بارور و نابارور انجام نشده است در حالیکه احتمال تفاوت این میزان در افراد نابارور و بارور وجود دارد مطالعه حاضر به منظور بررسی سطح سرمی رسپتور لپتین محلول در مردان بارور و نابارور انجام می‌گردد. تستسترون از هورمون‌های مهم موجود در بدن زن و مرد می‌باشد که



اساس آزمایش سنجش تستسترون: اندازه‌گیری غلظت تستسترون موجود در خون با استفاده از کیت Diametra انجام شد. در این سنجش، غلظت توتال تستسترون اندازه‌گیری شد (یعنی اندازه‌گیری تستسترون باند شده و آزاد) که برای این کار ابتدا می‌بایست تستسترون از پروتئین‌های باند شده با آن جدا شود. تستسترون (آنتی ژن) موجود در نمونه‌ها با تستسترون آنتی ژنیک کونژگه شده با HRP، برای اتصال به آنتی‌بادی آنتی تستسترون کوت شده در کف پلیت (فاز جامد) رقابت می‌کند. بعد از انکوباسیون، با شستشو، آنتی‌ژن‌های آزاد و باند شده از هم جدا می‌شوند. بعد از واکنش آنزیم HRP با سوبستراهای A و B، یعنی آب اکسیژنه (H_2O_2) و تترامیل بنزیدین (TMB) رنگ آبی ایجاد می‌شود که بعد از اضافه کردن محلول متوقف کننده (H_2SO_4) به رنگ زرد تبدیل می‌شود. شدت رنگ ارتباط معکوس با غلظت تستسترون موجود در نمونه دارد.

مراحل انجام آزمایش:

- ۱- ۲۵ میکرولیتر از استانداردها، سرم کنترل و نمونه‌ها را داخل هر چاهک می‌ریزیم.
- ۲- ۱۰۰ میکرولیتر از کونژوگه آنزیمی (-HRP TESTESTRON) را داخل هر چاهک می‌ریزیم.
- ۳- پلیت را بمدت ۱۵ ثانیه به آرامی تکان می‌دهیم تا محتویات چاهک‌ها خوب مخلوط شود سپس به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه و تاریکی انکوبه می‌کنیم.
- ۴- محتویات چاهک‌ها را خالی کرده و ۵ بار با ۳۰۰ میکرولیتر بافر شستشوی آماده مصرف می‌شویم.
- ۵- ۱۰۰ میکرولیتر از سوبسترای آماده مصرف را به تمامی چاهک‌ها اضافه می‌کنیم و بمدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی انکوبه می‌کنیم.
- ۶- ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده واکنش را به چاهک‌ها اضافه می‌کنیم و جذب نور را در ۴۵۰ نانومتر با دستگاه الیزاریدر قرائت می‌کنیم.

تحقیقات این نتایج بدست آمد: میزان مقدار لپتین در پلاسما در گروه نرمال، گروه OA و گروه واریکاسلی با غلظت اسپرم رابطه عکس دارد. میزان رسپتور در سلول‌های بینابینی در این چهار گروه با غلظت تستسترون رابطه عکس دارد. در این مطالعه نشان داده شده است که افزایش بیان LEP.R در سلول‌های لیدیگ سبب مهار تولید تستسترون می‌شود و بیان آن با نقص در اسپرماتوزن افزایش می‌یابد [۱۲،۱۰].

مواد و روش کار

در این مطالعه مورد - شاهدی (case-control)، متغیرها در دو گروه بارور و نابارور مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفتند. از ۱۰۰ مرد نابارور مراجعه‌کننده به کلینیک ناباروری فاطمیه و ۱۰۰ مرد بارور در سطح انستیتو پاستور تهران که شرایط ورود به مطالعه را داشتند و حاضر به همکاری در این طرح تحقیقاتی بودند با اخذ رضایت نامه نمونه‌گیری شد. بیماری مردان نابارور مطابق تشخیص پزشک معالج مشخص شد. در این مورد مطالعاتی دو نمونه اسپرم آستنو و تراآتو را مورد بررسی قرار دادیم. نمونه اسپرم آستنو (اسپرم نرمال) و نمونه اسپرم تراآتو (اسپرم غیرنرمال) می‌باشد. علاوه بر این سعی شد، که محدوده سنی افراد بارور و نابارور تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشته باشد. افراد دارای سابقه ابتلا به بیماری - های سیستم ایمنی مثل SCID و بیماری سل و غیره از گروه بارور و نابارور حذف شدند.

نحوه نمونه‌گیری: از هریک از افراد بارور و نابارور به میزان ۱۰ میلی‌لیتر خون وریدی گرفته و در دو لوله فالكون ۱۵ میلی‌لیتری هیپارینه ریخته شد، سپس یکی از لوله‌های حاوی ۷ میلی‌لیتر خون کامل را جهت جداسازی پلاسما با دور ۳۰۰۰ گرم به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ نمودیم. نمونه‌های پلاسما و نمونه خون (packed cells) جدا شده و برای آزمایشات بعدی مورد استفاده قرار گرفتند. به این صورت که ابتدا بخش سلولی برای استخراج DNA و پلاسما برای اندازه‌گیری‌های هورمونی استفاده گردید.



اساس آزمایش سنجش لپتین: اساس اندازه‌گیری لپتین با استفاده از کیت media agnost آلمان، به روش ساندریچ و با استفاده از آنتی‌بادی‌های منو کلونال است. در این روش چاهک‌ها توسط آنتی‌بادی‌هایی علیه زیر واحد بتای مولکول لپتین پوشش داده می‌شوند. نمونه بیماران با آنتی‌بادی پوشش داده شده در ته چاهک‌ها مجاور می‌شود. سپس آنتی‌بادی ثانویه ضد لپتین متصل به آنزیم HRP به چاهک‌ها اضافه می‌شود. مقدار کمپلکس ایمنی تشکیل شده در چاهک‌ها با غلظت لپتین در نمونه‌ها متناسب است. پس از شستشو، محلول رنگزا که حاوی پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و کروموژن است، داخل چاهک‌ها ریخته شده که رنگ آبی پدید آمده با کمپلکس ایمنی تشکیل شده در چاهک‌ها متناسب است. با افزودن محلول متوقف کننده، رنگ آبی به زرد تبدیل می‌شود که بهترین جذب نوری را در ۴۵۰ نانومتر دارد.

مراحل انجام آزمایش شامل مراحل زیر است:

- ۱- ۲۵۱ میکرولیتر از استانداردها، سرم کنترل و نمونه‌ها را داخل هر چاهک می‌ریزیم.
- ۲- ۱۰۰ میکرولیتر از کونژوگه آنزیمی (HRP-LEPTIN) را داخل هر چاهک می‌ریزیم.
- ۳- پلیت را بمدت ۱۵ ثانیه به آرامی تکان می‌دهیم تا محتویات چاهک‌ها خوب مخلوط شود سپس به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه و تاریکی انکوبه می‌کنیم.
- ۴- محتویات چاهک‌ها را خالی کرده و ۵ بار با ۳۰۰ میکرولیتر بافر شستشوی آماده مصرف می‌شویم.
- ۵- ۱۰۰ میکرولیتر از سوسترای آماده مصرف را به تمامی چاهک‌ها اضافه می‌کنیم و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی انکوبه می‌کنیم.
- ۶- ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده واکنش را به چاهک‌ها اضافه می‌کنیم و جذب نور را در ۴۵۰ نانومتر با دستگاه الیزو ریدر قرائت می‌کنیم.

آنالیز آماری: از برنامه SPSS 16 جهت انجام آنالیز آماری داده‌های به دست آمده استفاده شد. برای نشان دادن فراوانی لپتین در مردان بارور و نابارور از جداول توزیع فراوانی و آزمون χ^2 استفاده گردید. آزمون odd ratio نیز برای تخمین خطر نسبی لپتین مورد استفاده قرار گرفت. برای ارتباط لپتین از آزمون ANOVA استفاده شد. نتایج آزمایشات مختلف بر حسب میانگین \pm انحراف معیار بیان گردید. سطح معنی داری آماری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

برای مقایسه میانگین غلظت هورمون‌های، تسترون و لپتین در دو گروه مردان بارور و نابارور از Independent sample T-test استفاده شد. با توجه به نتایج گزارش شده در جدول، میانگین غلظت هورمون لپتین در مردان بارور به طور کاملاً معنی داری بیشتر از میانگین این هورمون‌ها در مردان نابارور بود اما در مورد تستسترون ارتباط معنی داری بین گروه‌های مذکور مشاهده نشد.

برای مقایسه میانگین غلظت هورمون‌های LH, FSH, تستسترون و لپتین در سه گروه مردان بارور و نابارور Asthenospermia و نابارور Teratoasthenozoospermia از آزمون One-way ANOVA استفاده شد و نتایج نشان داد که میانگین غلظت هورمون‌های LH, FSH در مردان بارور به طور کاملاً معنی داری بیشتر از میانگین این هورمون‌ها در هر دو گروه مردان نابارور بود اما در مورد تستسترون ارتباط معناداری مشاهده نشد. با استفاده از تحقیقات انجام گرفته و نتایج بدست آمده می‌توان گفت میزان تستسترون در مردان نابارور بیشتر از مردان بارور است ولی میزان لپتین در مردان بارور بیشتر از مردان نابارور است. در این نمودار مردان نابارور را به دو گروه آستنو و ترا تو تقسیم بندی کرده و میزان هورمون‌ها را در آنها اندازه‌گیری کردیم. میزان تستسترون در گروه نابارور آستنو (اسپریم نرمال) بیشتر از گروه نابارور ترا تو (اسپریم غیرنرمال) است ولی میزان لپتین،



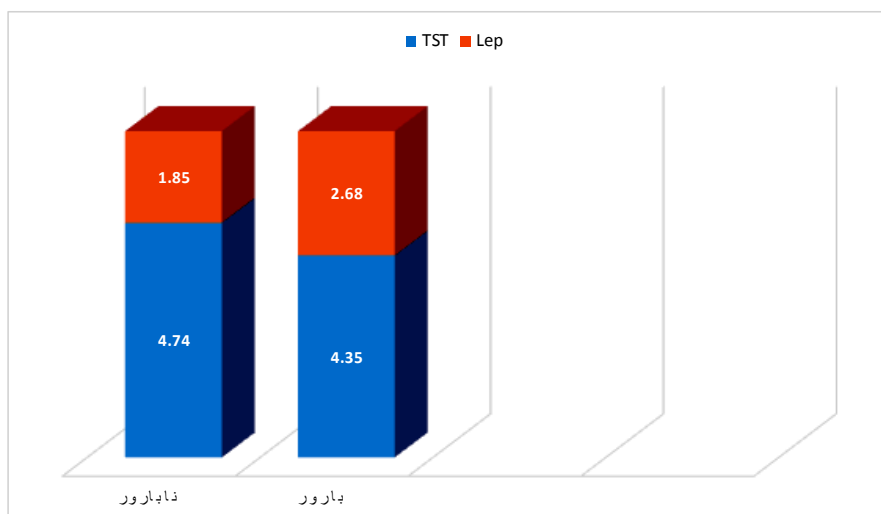
در گروه تراتو بیشتر از آستنو است. با استفاده از تحقیقات انجام گرفته و نتایج بدست آمده می‌توان گفت میزان تستسترون در مردان نابارور بیشتر از مردان بارور است. ولی میزان لپتین در مردان بارور بیشتر از مردان نابارور است.

جدول ۱- میانگین غلظت تستوسترون و لپتین در دو گروه مردان بارور و نابارور (انحراف معیار \pm میانگین)

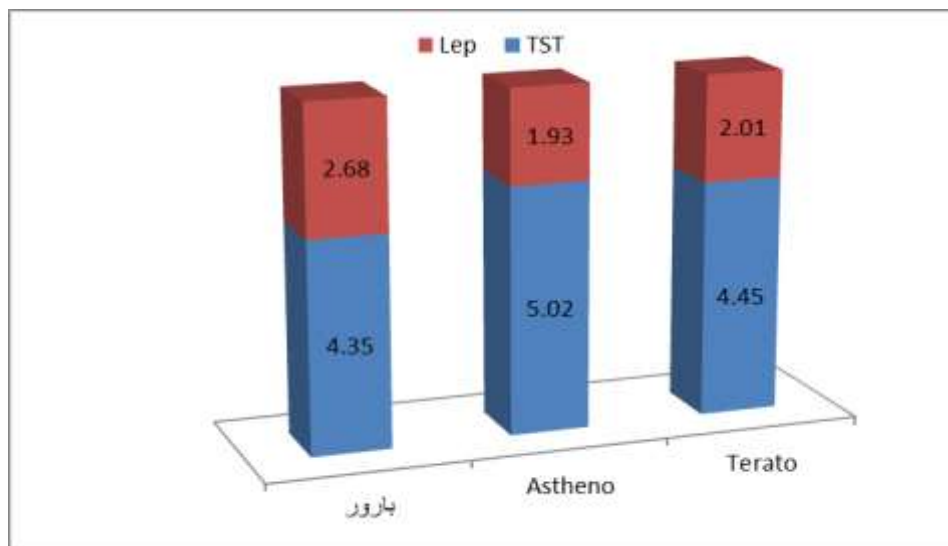
هورمون	بارور (۲۰۰ نفر)	نابارور (۲۰۰ نفر)	p-value
تستوسترون	4.35 ± 2.03	4.74 ± 3.03	۰/۱۳۷
لپتین	2.68 ± 1.05	1.85 ± 1.04	<۰/۰۰۱

جدول ۲- میانگین غلظت تستوسترون و لپتین در سه گروه مردان بارور و نابارور Asthenospermia و Teratoasthenozoospermia

هورمون	بارور	نابارور		p-value
		Asthenospermia	Teratoasthenozoospermia	
تستوسترون	4.35 ± 2.03	5.02 ± 2.48	4.45 ± 3.49	۰/۰۹
لپتین	2.68 ± 1.05	1.93 ± 1.26	2.01 ± 1.76	<۰/۰۰۱



نمودار ۱- میانگین غلظت تستوسترون و لپتین در دو گروه مردان بارور و نابارور



نمودار ۲- میانگین غلظت هورمون‌های لپتین، تستوسترون در سه گروه مردان بارور و نابارور Asthenozoospermia و نابارور Teratozoospermia

نتیجه‌گیری

مشاهده نتایج بدست آمده فوق نشان می‌دهد که لپتین با اتصال قوی تر به رسپتور خود و بسته به اینکه چه مسیر سیگنال ترانسداکشنی را فعال کند می‌تواند ترشح گنادونروپین‌ها را با توجه به شرایط بدن تنظیم کند. پس نتیجه‌ای که می‌گیریم این است که میزان تستوسترون رابطه عکس و میزان لپتین رابطه مستقیمی با غلظت اسپرم دارد.

منابع

- 1- Caprio M., Isidori A.M., Carta A.R., Moretti C., Dufau M.L., Fabbri A. (1999), Expression of Functional Leptin Receptors in Rodent Leydig Cells 1. *Endocrinology*, 140(11): 4939-4947.
- 2- Chehab F.F., Lim M.E., Lu R. (1996). Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin. *Nature Genetics*, 12(3): 318-329.
- 3- Gnessi L., Fabbri A., Spera G. (1997), Gonadal Peptides as Mediators of Development and Functional Control of the Testis: An Integrated System with Hormones and Local

بحث

در پژوهش انجام شده، میزان تستوسترون در مردان نابارور بیشتر از مردان بارور است و میزان لپتین در مردان بارور بیشتر از مردان نابارور است در تحقیقات انجام شده که شارلیپ و همکارانش در سال ۲۰۰۲ بر روی بیماران Obstructive azoosperma (OA) انجام دادند به این نتیجه رسیدند که غلظت تستوسترون رابطه عکس با غلظت لپتین دارد که طی تحقیقات انجام شده نتیجه به دست آمده درست می‌باشد [۱۰] و در تحقیق زابولوتنی و همکارانش در سال ۲۰۰۲ موفق به شناسایی لپتین در قسمت دم اسپرم شدند که بطور چشمگیری در ارتباط با سلامت غشای پلاسمایی اسپرم است نیز آنها که غلظت لپتین بیشتری در اسپرم دارند افراد بارورتری نیز می‌باشند که طی تحقیقات انجام شده نتیجه به دست آمده درست می‌باشد [۱۵]. بنابراین می‌توان اینگونه برداشت کرد که لپتین با اتصال قوی‌تر به رسپتور خود و بسته به اینکه چه مسیر سیگنال ترانسداکشنی را فعال کند می‌تواند ترشح گنادونروپین‌ها را با توجه به شرایط بدن تنظیم کند.



- Lipshultz L.I., Sigman M., Thomas A.J. (2002), Best practice policiefor male infertility. *Fertility and Sterility*, 77(5): 873-882.
- 11- Tartaglia L. (1997), The leptin receptor. *J Biol Chem*, 272: 6093 - 6.
- 12- Tena-Sempere.M., Pinilla. L., Gonzalez .L, Dieguez C., Casanueva F., Aguilar E. (1999), Leptin inhibits testosterone secretion from adult rat testis in vitro. *Journal of Endocrinology*, 161(2):211-8.
- 13- VanPatten S., Ranginani N., Shefer S., Nguyen L.B., Rossetti L., Cohen D.E. (2001), Impaired biliary lipid secretion in obese Zucker rats: leptin promotes hepatic cholesterol clearance. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 281(2): G393-G404.
- 14- Yura S., Ogawa Y., Sagawa N., Masuzaki H., Itoh H., Ebihara K. (2000), Accelerated puberty and late-onset hypothalamic hypogonadism in female transgenic skinny mice overexpressing leptin. *The Journal of clinical investigation*, 105(6):749-55.
- 15- Zabolotny J.M., Bence-Hanulec K.K., Stricker-Krongrad A., Haj F., Wang Y., Minokoshi Y. (2002), PTP1B regulates leptin signal transduction in vivo. *Developmental Cell*, 2(4): 489-95.
- 16- Zhang Y., Proenca R., Maffei M., Barone M., Leopold L., Friedman J.M.(1994), Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372(6505): 425-32.
- Environment 1. *Endocrine Reviews*, 18(4): 541-609.
- 4- .Kelesidis T., Mantzoros C. (2006), The emerging role of leptin in humans. *Pediatric Endocrinology Reviews*, 3(3): 239.
- 5- Kline A.D., Becker G.W., Churgay L.M., Landen B.E., Martin D.K. (1997), Leptin is a four-helix bundle: secondary structure by NMR. *FEBS Letters*, 407(1997): 239-242.
- 6- Laclaustra M., Corella D., Ordovas J.M. (2007), Metabolicsyndrome pathophysiology: the role of adipose tissue. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 17(2): 125-39.
- 7- Lee J.H., Chan J.L., Surlas E., Raptopoulos V., Mantzoros C.S. (2006), Recombinant methionyl human leptin therapy in replacement doses improves insulin resistance and metabolic profile in patients with lipoatrophy and metabolic syndrome induced by the highly active antiretroviral therapy. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 91(7): 2605-11.
- 8- Masuzaki, H. *et al.*, (1997), Non-adipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta- derived hormone in humans. *Natural Medicine*, 3:1029-1033.
- 9- Schwartz M.W., Peskind E., Raskind M., Boyko E.J., Porte D. (1996), Cerebrospinal fluid leptin levels: relationship to plasma levels and to adiposity in humans. *Natural Medicine*, 2(5):589-93.
- 10- Sharlip I.D., Jarow J.P., Belker A.M.,

