

Роль лептина в нарушении репродуктивной функции при ожирении

Драган Миичич, Горан Цвийович, Александра Кендерешки, Мирьяна Шумарац-Думанович, Светлана Зорич, Даница Пейкович, *Кристина Маркович

Институт Эндокринологии, Диабета и Болезней Метаболизма, Клинический Центр Сербии, Др Суботича, Белград, Сербия и Черногория
*ГУ Эндокринологический Научный Центр РАМН, Москва

Ожирение является все более распространенной медицинской проблемой в современном мире. Ожирение связано с увеличением риска развития сахарного диабета, остеоартритов, сердечно-сосудистых заболеваний, рака молочной железы и матки у женщин и нарушениями репродуктивной функции [62]. Взаимосвязь между метаболизмом и репродуктивной функцией у женщин до сих пор остается невыясненной [30]. Прослеживается U-образный эффект массы тела на репродуктивную функцию — низкая или высокая масса тела способствуют нарушению менструальной и репродуктивной функции [17].

Предложено несколько факторов, таких как инсулин, аминокислоты, инсулиноподобный фактор роста 1 (ИФР-1) в качестве возможных связующих между показателями обмена веществ и репродуктивной системой. Недавнее открытие лептина (Л), белкового гормона, состоящего из 167 аминокислотных последовательностей, пролило новый свет в этой области [72]. Концентрации Л у женщин почти в два раза превышали таковые у мужчин [13]. Л и инсулин оказывают действие на центральные механизмы, ответственные за прием пищи и расход энергии. Уровень Л в крови четко коррелирует с количеством общей жировой массы, поэтому у людей с ожирением определяются более высокие показатели гормона. Многие исследования указывают на центральный механизм действия лептина на репродуктивную ось, однако недавно обнаруженные его рецепторы в гонадах и надпочечниках, позволили предположить и некоторые новые возможные механизмы действия данной области [29,71].

Адиipoцит как эндокринная клетка

Адиipoциты содержат значительное количество холестерина по отношению к их объему, оновная

часть которого захватывается из кровеносного русла и только небольшая часть синтезируется в самой клетке. Холестерин используется для синтеза различных стероидных соединений [7]. Жировая ткань способна превращать андрогены в эстрогены (благодаря ароматазной активности), эстрадиол в эстрон и дегидроэпиандростерона сульфат (ДГЭА) в андростендиол (благодаря 17 β гидроксистероид-дегидрогеназной активности). Ароматазная активность обнаружена в клетках околожировой соединительно-сосудистой стромы и может отличаться в различных местах отложения жировой ткани [62]. Различий в уровнях андрогенов у пациентов с «простым» ожирением по сравнению с контрольной группой отмечено не было [72] в отличие от повышенной концентрации андростендиона, эстрогена и инсулина у женщин с центральным типом ожирения [64]. У женщин количество андростендиона, превращаемого в эстрон, зависит от общей массы тела в процентном отношении по следующей схеме: 49–63 кг (1%), 63,1–91 кг (1,5%) и > 91 кг (2,3%) [62].

Адиipoциты, кроме Л, секретируют эйкозаноиды (PGE2, PGI2, PGF2a), эндотелиальный ростовой фактор (VEGF), интерлейкины, фактор некроза опухоли α (ФНО- α) и многие другие активные соединения. Лептин, продукт гена ob, находящегося на хромосоме 7q31, является полипептидом, который состоит из 167 аминокислот и секретируется не только адиipoцитами [72] — его продукция прослеживается и в гипоталамусе, гипофизе, яичниках, скелетной мышце, трофобласте плаценты и эпителии дна желудка. В адиipoцитах Л секретируется пульсирующим образом, в циркадном ритме с подъемом концентрации преимущественно в ранние утренние часы (02.00), достигая минимальных значений после полудня (15.00–17.00). В крови гормон циркулирует в

свободном и связанном виде [13]. У мышей ob/ob с генетически обусловленным ожирением прослеживается бесплодие, гиперинсулинемия и гипергликемия. Ограничение в еде у этих животных не способствует восстановлению фертильности, тогда как лечение рекомбинантным Л увеличивает массу матки и яичников, семенных пузырьков и яичек и корректирует бесплодие, гиперинсулинемию и гипергликемию [5,9,14,21,61].

Лептин и центральная нервная система

Рецептор лептина (РЛ) представляет собой одоничный мембрано-связанный белок, гомологичный I классу цитокиновых рецепторов, существует в двух изоформах: длинная — имеющая в своем составе все белковые составляющие и способная оказывать влияние Л на вес тела, и короткая изоформа, обладающая транспортными функциями [3]. Внутриклеточная передача сигнала для действия гормона осуществляется с помощью комплексной сигнальной системы, состоящей из митоген-активирующей протеин (МАП) киназы, цитоплазматической тирозинкиназы (JAK), переносчика сигнала и активаторов транскрипции STATS 3,5 и 6, а также их мишень fos. Экспрессия РЛ выявлена в хориоидальном сплетении, мягкой мозговой оболочке, гипоталамусе, гонадотрофных клетках передней доли гипофиза, эпителиальных клетках молочных желез, яичниках (клетки гранулезы, теки и интерстиции), эндометрии, яичках (клетки Лейди-га), плаценты и желудка [15,39,43,59,71]. Локализация РЛ в хориоидальном сплетении и мягких мозговых оболочках предполагает их участие в транспортировке лептина через гематоэнцефалический барьер [19,53]. В гипоталамусе РЛ преимущественно локализованы в аркуатном (ARC), вентромедиальном (VMN) и паравентрикулярном (PVN) ядрах, которые известны как важные регуляторы питания и репродукции [18,22,23,32,33,71]. Важным обстоятельством является обнаружение самого Л и рецепторов к нему в нейронах, секретирующих гонадотропин-рилизинг гормон (ГРГ) [54,71]. Исследования *in vitro* показали, что Л дозозависимо стимулирует выброс лютеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и пролактина (Прл) в культуре клеток гипофиза [70]. Данные эффекты осуществляются двумя путями: прямым влиянием на нейроны, секретирующие ГРГ [54,70], либо косвенно через межнейронную систему, оказывающую влияние на высвобождение ГРГ (предположительно посредством кокаин или амфетамин-регулирующего пептида) [50,63]. Благодаря насыщаемой системе транспорта Л через гематоэнцефалический барьер, центральные лептиновые рецепторы, которые чувствительны к исключительно низкой концентрации лиганда, защищены от возможной гиперлептинемии. По данным литературы, главная причина резистентности к Л при ожирении является ухудшение работы переносчиков, а также снижение его транспорта через гематоэнцефалический барьер [4].

Лептин и яичники

Гиперлептинемия оказывает ингибирующее влияние на тестикулярный и овариальный стероидогенез. Для поддержания нормальной репродуктивной функции у мужчин и женщин необходим определенный узкий диапазон концентраций Л, т.к. значения выше или ниже пороговых служат препятствием для нормального функционирования гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси [11].

В настоящее время, исследования *in vitro* на клетках гранулезы и теки показали, что Л подавляет секрецию стероидов яичниками. Гормон в концентрациях, характерных для женщин репродуктивного возраста с ожирением, ингибирует продукцию гранулезными клетками эстрадиола, который стимулируется ФСГ и ИРФ-1, благодаря двойному непосредственному влиянию на клетки гранулезы и путем редукции андрогенного субстрата клеток теки. Частично этим можно объяснить высокую частоту репродуктивной дисфункции у женщин с ожирением и восстановление фертильности после снижения веса [11].

Л участвует в регуляции овариального фолликулогенеза прямым путем через имеющиеся рецепторы на ооцитах и зародышах в стадии ранней преимплантации (предполагается его физиологическая роль в созревании фолликулов, развитии ооцитов и раннем делении клеток) и косвенным путем — через секрецию гонадотропина [8], способствуя, таким образом, индукции овуляции. Это дает возможность его применения в прикладных репродуктивных технологиях. Уровень лептина в сыворотке минимален в течение ранней фолликулярной фазы и достигает пика в лютеиновую фазу [69]. У молодых совершеннолетних женщин с ановуляторным циклом отмечаются более низкие концентрации Л по сравнению с женщинами, у которых прослеживается нормальная овуляция, что также предполагает участие гормона в регуляции этого процесса [44].

Уровень циркулирующего Л возрастает вместе с уровнем эстрадиола в течение овариальной стимуляции [73]. Были предложены источники повышенной концентрации Л: созревающие фолликулы и клетки гранулезы, клетки теки и желтого тела [15,52], однако окончательный механизм повышения уровня Л при стимуляции ФСГ остается неясным. В недавнем исследовании, посвященном изучению уровня Л, VEGF, факторов роста инсулинового типа (IGF-1, и IGFBP-3) в сыворотке и фолликулярной жидкости у женщин, подвергавшихся экстракорпоральному оплодотворению (ЭКО), найдена стабильная корреляция между уровнем IGF-1, IGFBP-3 в фолликулярной жидкости и уровнем лептина в сыворотке [20], но не найдена связь между уровнем любого из этих гормонов в фолликулярной жидкости и результатом ЭКО.

Лептин, пубертат и сексуальный диморфизм

Теория, что чрезмерные физические упражнения или недостаточное питание могли бы отсрочить наступление пубертата, ухудшить фертильность или

предотвратить менструацию связано с работами Розы Фриш в 60х гг. Она предположила, что достижение критической массы жировой ткани у молодых здоровых женщин является важнейшим триггером цикличности гипоталамико-гипофизарно-овариальной функции. Необходимая масса жировой ткани определяет наступление первой менструации, является исключительно важной для наступления беременности в последующем, учитывая, что для успешной беременности необходимо около 50.000 калорий, хранящихся в виде жира [25]. При исследовании семей, имеющих мутации гена или рецептора Л наблюдалось отсутствие пубертата и гипогонадотропный гипогонадизм [16, 67]. Достижение критической массы жировой ткани, вероятно, является также важной для установления гипоталамико-гонадной активности у мужчин, хотя данное утверждение менее исследовано. Показано, что уровень Л увеличивается на 50% у мужчин до начала пубертата, а затем снижается до базальных значений после его наступления [55]. Остается невыясненным факт, может ли Л являться «разрешающим фактором», действуя в качестве возбуждающего медиатора, необходимыми для наступления пубертата, или в качестве «триггерного фактора», как фазный медиатор, определяющий запуск пубертата [11].

Многие исследования демонстрируют половые различия в концентрациях лептина плазмы, независимо от распределения жировой ткани или ИМТ — в течение взрослой жизни его уровень у женщин в 3–4 раза выше, чем у мужчин [6, 28, 48]. Даже новорожденные девочки имеют на 40% более высокий уровень Л в крови пупочной вены, чем мальчики [3]. У мужчин уровень лептина постепенно возрастает в детском возрасте, достигая пика в начальных стадиях пубертата, а затем снижается, в то время как у женщин увеличивается неизменно в течение всего периода пубертата [11]. Caprio M. с соавт. [11] предположили, что пубертат представляет собой поворотную точку в сексуальных диморфических отношениях между гипоталамо-гипофизарно-гонадной осью и Л, определяя стероидную среду, которая ведет к различию в регуляции секреции Л между полами.

Лептин, синдром поликистозных яичников и бесплодие

Сниженная фертильность у женщин с ожирением, как правило, взаимосвязана с хронической ановуляцией и амено- и/или олигоменорей. Показано, что распространенность ожирения в 4–5 раз выше у женщин с вторичной аменореей по сравнению с женщинами, у которых имеется регулярный менструальный цикл. Также прослежена прямая связь между нерегулярным менструальным циклом и степенью ожирения [35]. Для женщин старше 18 лет и ИМТ = 24 кг/м² и выше, относительный риск бесплодия вследствие ановуляции составляет 1.7 (доверительный интервал 1.5–1.9). У женщин с ожирением определяется гиперандрогения, сниженный уровень секс-стероид связывающего глобулина (СССГ), нарушенная секреция гонадотропинов, а также несоответствующая секреция инсулина [7].

Особой проблемой, которая объединяет ожирение и бесплодие, является синдром поликистозных яичников (СПЯ), значимость ее обусловлена двумя причинами: во-первых, СПЯ является наиболее частой эндокринопатией, встречающейся у 5–10% женщин репродуктивного возраста [46] и, во-вторых, около 50% женщин с СПЯ имеют ожирение [40]. Сочетание ожирения, инсулинорезистентности и бесплодия при данном заболевании позволяет предположить, что лептин может играть определенную роль в нарушении функции яичников в этом случае [10]. Исследования, посвященные взаимосвязи Л и СПЯ показывают противоречивые данные. Некоторые исследователи придерживаются мнения, что уровень сывороточного лептина у женщин с СПЯ значимо не отличается от женщин контрольной группы с тем же ИМТ [31]. Многие исследователи доказали, что у женщин с СПЯ при сравнении с группой, контрольной по весу, уровень лептина чаще является повышенным, чем сниженным [10]. Также у данной категории больных уровни инсулина и Л находятся в прямой корреляции, что позволяет предположить существование инсулиновой и лептиновой резистентности [12]. В нашем исследовании, посвященном изучению уровней лептина и инсулина у пациенток с СПЯ, мы показали наличие высокого уровня сывороточного лептина у женщин с СПЯ и ожирением (рис. 1), а также высокий уровень инсулина и тестостерона. В то же время мы не нашли такой же ассоциации у пациенток с СПЯ без ожирения, возможно это связано с нормальной чувствительностью к инсулину (рис. 2) [58]. Можно предположить, что высокий уровень Л влияет на фертильность у пациенток с СПЯ, и следовательно заместительная терапия Л теоретически могла бы преодолеть предполагаемую лептиновую резистентность, по крайней мере у пациенток с ожирением и СПЯ [58]. Высокий уровень сывороточного Л может играть роль в остановке развития фолликулов у определенного количества женщин с СПЯ [1]. Циркулирующий Л у людей может влиять на функцию яичников либо посредством прямого воздействия на яичник, либо опосредовано путем модуляции инсулиновой активности или секреции ЛГ. Тем не менее, некоторые исследователи [68], не найдя какой-либо разницы между уровнями Л у пациенток с СПЯ и контрольной группой, предположили, что циркулирующие концентрации Л не способствуют нарушению развития фолликулов и овуляции у данных пациенток. Veldhuis и соавт. исследовав секрецию Л, ЛГ и андрогенов овариального происхождения у подростков с СПЯ без ожирения, выявили нарушение регулярности секреции лептина, утрату бигормональной синхронизации между выбросом лептина и ЛГ, ослабление обратной связи между лептином и андростендионом и тестостероном. Они сделали предположение, что СПЯ у худых подростков патофизиологически представлен четким нарушением синхронизации выброса лептина, ЛГ и андрогенов. До сих пор не ясно улучшается ли данное нарушение связи в лептин-гонадальной оси

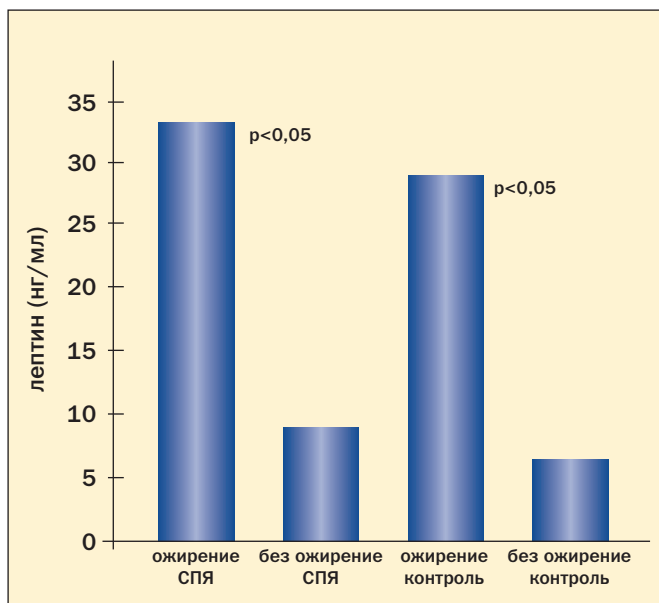


Рисунок 1. Уровень лептина у пациенток с СПЯ (Micic D. и соавт., 1997).

при лечении и/или персистирует в течение взрослой жизни. Remsberg K. E с соавт. [66] представили доказательства влияния массы тела, гиперинсулинемии, инсулинорезистентности и андрогенов на уровень лептина среди худых, пациенток с избыточным весом или ожирением и с СПЯ. В данном исследовании показано, что ниже определенного ИМТ, женщины с СПЯ и гиперандрогенией имеют более низкий уровень Л по сравнению с контрольной группой. А у пациенток с СПЯ, у которых имеется избыточная масса тела и ожирение, прослеживается недостаточность лептина относительно уровня гиперинсулинемии, потенциально из-за конкурирующего эффекта инсулинорезистентности адипоцитов и андрогенов в отношении лептина. Уровни лептина, хотя и повышенные у группы пациентов с ожирением, статистически не отличались от контрольной группы. Это предполагает зависимость недостаточности лептина и нечувствительности к действию лептина от степени ожирения и гипергликемии.

Еще одним важным моментом, связывающим ожирение, СПЯ и бесплодие, является относительная недостаточность гормона роста (ГР), выявленная у данной группы пациенток. Предполагаемая роль гормона роста и его влияние на эффекты гонадотропинов у пациенток с СПЯ была продемонстрирована во многих исследованиях [24,60]. Нарушение секреции гормона роста объяснялось дисфункцией кинетики гормона роста и ГР/ИФР-1 системы [42]. Низкие параметры ГР, наряду с ответной реакцией на введение релизинг гормона (РГ), по всей видимости, являются функциональными, поскольку преодолеваются с помощью комбинированной стимуляции РГ+РГП-6 [57]. Более того, ответный выброс ГР после стимуляции РГР+РГП-6 значительно вырос после краткосрочного голодания у этой группы пациенток (рис. 3). Данное улучшение секреции ГР было сопряжено со значимым уменьшением уровня инсулина и Л (рис. 4), также как и инсулинорезистентности [58]. Л возможно играет роль в качестве

метаболического сигнала, регулирующего секрецию ГР путем влияния на ГР-регулирующие гормоны, как это было продемонстрировано на крысах, когда введение лептина привело к выбросу гипоталамического ГРРГ мРНК на 61,8% и уменьшению уровня мРНК соматостатина на 41,5%. Сочетание высокого уровня лептина и низкого ГР в сыворотке крови пациентов с ожирением предполагает наличие лептинорезистентности при этих условиях.

Лептин и беременность

Беременность характеризуется состоянием повышенного метаболизма, при котором происходит значительное увеличение веса матери, преимущественно в последнем триместре беременности наряду с существенными нейроэндокринными изменениями в качестве адаптации к новому гормональному статусу [3]. Во время беременности уровень Л повышен независимо от увеличения веса тела и объема жировой ткани [34,37,38]. Сывороточные концентрации Л увеличиваются незначительно в течение беременности, снижаются сразу после родов, далее возрастают в течение первых шести месяцев после родов. Непосредственно перед родами отмечается резкое снижение уровня лептина и далее в течение 24 часов до родов оно достигает уровня, характерного для небеременных женщин с дальнейшей редукцией в течение 24 часов после родов. Данные колебания не были связаны с изменениями в телосложении, и могут быть причиной прибавления в весе непосредственно после родов, наблюдаемого у некоторых женщин [47]. Было высказано одно интересное разъяснение повышения концентрации лептина в течение беременности, заключающееся в вызванной беременностью усилении лептиновой резистентности, и отсюда возможное поддержание увеличения потребления пищи у матери, несмотря на увеличенное количество жировых отложений, в качестве продолжения накопления питательных резервов для лактации [61]. Baldelli с соавт. [3] предположили, что во время 6 месяцев послеродового периода, в течение которых у

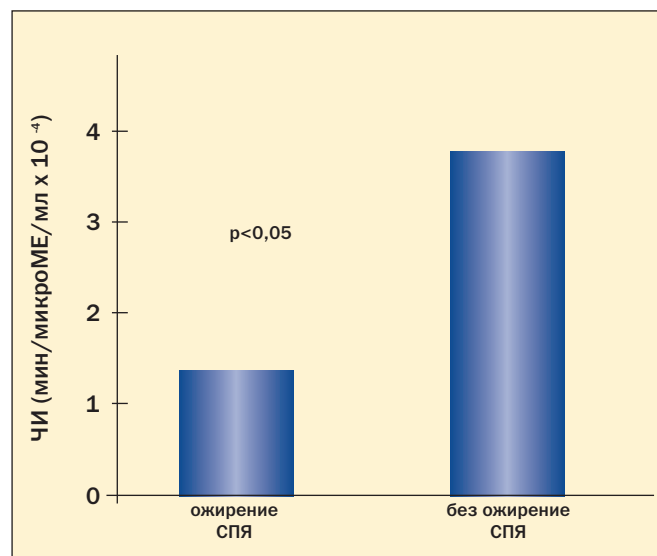


Рисунок 2. Чувствительность к инсулину (ЧИ) у пациенток с СПЯ с ожирением и без (Micic D. с соавт., 1997).

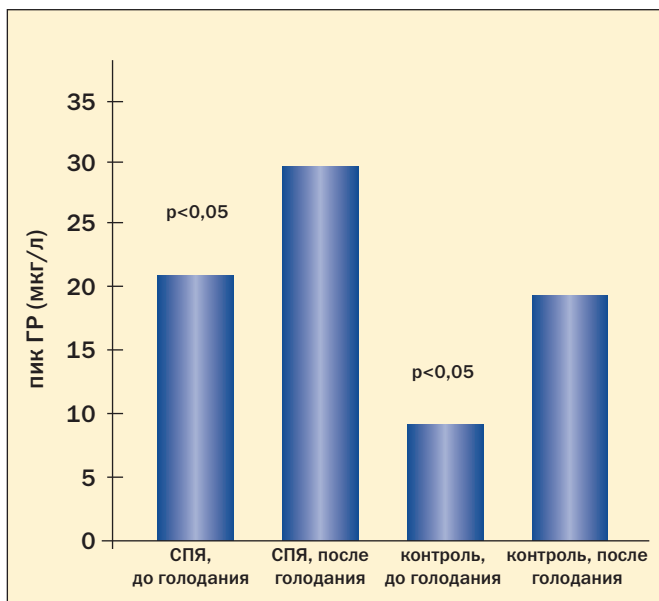


Рисунок 3. Ответ гормона роста на введение РГ+РГП-6 до и после еды у пациенток с СПЯ и ожирением (Micic D. с соавт., 2003).

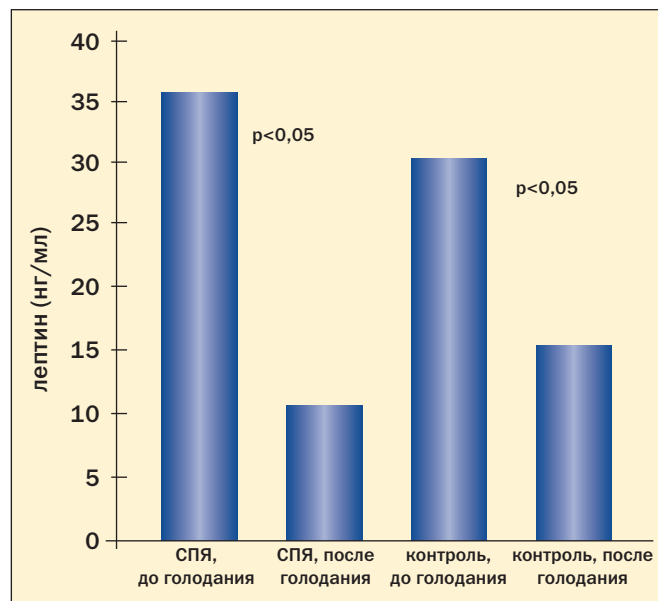


Рисунок 4. Изменение уровня лептина в течение короткого периода голодания у пациенток с СПЯ и ожирением (Micic D. с соавт., 2003).

матерей отмечаются необычайно высокие уровни Л, устанавливаются разрешающие концентрации лептина для гипоталамического рецептора к последнему через его десенсибилизацию, определяя тем самым гипотезу, которая могла бы объяснить механизм удержания или прибавки веса после родов, описанную у некоторых женщин.

Лептин и плацента

Источником повышенной продукции лептина в течение беременности может служить жировая ткань и плацента. Masuzaki H. с соавт. [56] показали, что у беременных женщин секретируется значительное количество Л. Также, некоторые исследования показали, что плацента может быть способна продуцировать равные, если даже и не более высокие уровни лептина, чем жировая ткань [27, 56]. Все полученные данные свидетельствуют о том, что лептин может играть роль в поддержании течения беременности [8]. Другие авторы делают предположения, что увеличение мРНК лептина в плаценте является результатом аутокринного и паракринного действия лептина [8]. Кроме того, было показано, что лептин связывается с РЛ в органах плода, что могло бы предположить влияние лептина на рост и развитие плода [2]. Необычайно низкий уровень сывороточного лептина был обнаружен у женщин, у которых случались самопроизвольные аборты в первом триместре беременности. Предположения, касающиеся возможной роли лептина в качестве причинного фактора повышенного веса ребенка при рождении (Brannian J., 2002), были сделаны в виду обнаружения повышенного уровня лептина в плаценте и повышенного уровня инсулина и лептина в венозной крови беременных женщин, болеющих диабетом и получающих лечение инсулином (учитывая, что у беременных женщин, болеющих диабетом, рождаются младенцы с большим весом)

[51, 68]. Л обнаруживается в пуповинной крови плода в самом начале 18-ой недели беременности со значительным увеличением к 34-ой неделе [35, 41]. Эти данные соответствуют началу формирования жировой ткани в течение второго триместра беременности и существенному увеличению ее в объеме в последние недели беременности. Было показано, что уровень лептина коррелирует с количеством жировой ткани у детей, но не с материнским уровнем сывороточного лептина, указывающий что синтез и секреция лептина у плода может быть обусловлена только плодом [41]. Уровень лептина в пуповинной крови у девочек на 40% выше, чем у мальчиков, подтверждает то, что описанные половые различия присутствуют еще до рождения [68]. Полученные сведения, касающиеся непропорционально высоких уровней лептина у новорожденных (вес детей составляет только 5% веса их матерей, но их уровень лептина составляет 50% от материнского), и последующей нормализации уровня лептина в течение 2 недель после рождения, могут подтверждать теорию о лептине как сигнала, способствующего росту и развитию плода на протяжении поздних сроков беременности [3, 36]. Продукция лептина плацентой увеличена при беременности, осложненной различными патологическими состояниями. Экспрессия гена в плаценте, а также уровень лептина в плазме матери при тяжелой преэклампсии значительно выше, чем в норме при беременности. Продукция лептина плацентой также увеличена у беременных женщин, болеющих диабетом и получающих инсулинотерапию. Было высказано предположение о влиянии лептина на акт имплантации зародыша благодаря его стимулирующему воздействию на экспрессию матричной металлопротеиназы в цитотрофобласте. Нарушение регуляции метаболизма лептина и/или функционирования плаценты может быть причастным к патогене-

незу различных нарушений в течение беременности, таких как повторные выкидыши, гестационный сахарный диабет, задержка внутриутробного развития плода и преэклампсия [66].

Ожирение и роды

Средний срок разрешения беременности у пациенток с ожирением не отличается от контрольной группы [26,49], и процент преждевременных родов у этих групп сопоставим [26, 49] или даже ниже [31]. Продолжительность потуг сравнима с группой женщин без ожирения [26, 31, 49], хотя некоторые авто-

ры находят их длиннее. Кесарево сечение выполняется в три раза чаще [26, 37, 49]. Заболеваемость и смертность, связанные с выполнением кесарева сечения, выше, также как и риск тромбоэмболии в послеродовом периоде при естественном родоразрешении [7]. Было показано, что уровень Л у матерей после родов был выше, чем в пуповине, и не коррелировал с возрастом матери, весом тела, ИМТ, прибавкой веса в течение беременности, уровнем глюкозы крови, холестерина, триглицеридов, кортизола и другими биохимическими параметрами или антропометрическими данными у новорожденных [45].

Л и т е р а т у р а

- Agarwal S.J., Vogel K., Weitsman S.R. et al: Leptin antagonizes the insulin-like growth factor-I augmentation of steroidogenesis in granulosa and theca cells of the human ovary. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1999; 84: 1072 –1076.
- Ashworth CJ, Hoggard N, Thomas L, et al. Placental leptin. *Rev Reprod*, 2000; 5: 18-24.
- Baldelli R, Dieguez C, Casanueva FF: The role of leptin in reproduction: experimental and clinical aspects. *Ann Med* 2002; 34: 5 – 18.
- Banks WA: Leptin transport across the blood-brain barrier: implications for the cause and treatment of obesity. *Curr Pharm Des* 2001; 7: 125-133.
- Barash IA, Cheung CC, Weigle DS, et al. Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. *Endocrinology*, 1996; 137: 3144-7.
- Blum WF, Englaro P, Hanitsch S, et al. Plasma leptin levels in healthy children and adolescents: dependence on body mass index, body fat mass, gender, pubertal stage, and testosterone. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997; 82: 2904-3010.
- Bongain A, Isnard V, Gillet JY: Obesity in obstetrics and gynaecology. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 1998; 77: 217 – 228.
- Brannan J.D, Hansen K.A.: Leptin and Ovarian Folliculogenesis: Implications for Ovulation Induction and ART Outcomes. *Seminars in Reproductive Medicine* 2002; 20: 103 – 112.
- Bray GA, York DA. Hypothalamic and genetic obesity in experimental animals: an autonomic and endocrine hypothesis. *Physiol Rev*, 1979; 59: 719-819.
- Brzechffa P.R., Jakimiuk A.J., Agarwal S.K., et al: Serum immunoreactive leptin concentrations in women with polycystic ovary syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1996; 81: 4166-4169.
- Caprio M, Fabbrini E, Isidori AM, et al.: Leptin in reproduction. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 2001; 12: 65-72.
- Carmina E, Ferin M, Gonzalez F., et al: Evidence that insulin and androgens may participate in the regulation of serum leptin levels in women. *Fertil Steril* 1999; 72: 926-931.
- Casanueva F.F., Dieguez C.: Neuroendocrine Regulation and Actions of Leptin. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 1999; 20: 317- 363.
- Chebab F, Lim M, Lu R. Correction of sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin. *Nat Genetics*, 1996; 12: 318-20.
- Cioffi J.A., Blerkom J., Antczak M., et al.: The expression of leptin and its receptors in pre-ovulatory human follicles. *Mol Hum Reprod* 1997; 3: 467 –472.
- Clement K., Vaisse C., Lahlou N.: A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature* 1998; 392: 398-401.
- Correa H, Jacoby J. Nutrition and fertility: some iconoclastic results. *Am J Clin Nutr*, 1978; 31: 1431-6.
- Couce ME, Burguera B, Parisi JE, et al. Localization of leptin receptor in the human brain. *Neuroendocrinology*, 1997; 66: 145-50.
- Devos R, Richards JG, Campfield LA, et al. OB protein binds specifically to the choroid plexus of mice and rats. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996; 93: 5668-73.
- Dorn C., Reinsberg J., Kupka M., et al.: Leptin, VEGF, IGF-1, and IFFBP-3 concentrations in serum and follicular fluid of women undergoing in vitro fertilization. *Arch Gynecol Obstet* 2003; 268: 187 – 193.
- Dubuc PU. The development of obesity, hyperinsulinemia and hyperglycemia in ob/ob mice. *Metabolism*, 1976; 25: 1567-74.
- Elmqvist JK, Bjorbaek C, Ahima RS, et al. Distribution of leptin receptor mRNA isoforms in the rat brain. *J Comp Neurol*, 1998; 395: 535-47.
- Fei H, Okano HJ, Li C, et al. Anatomic localization of alternately spliced leptin receptors (OB-R) in the mouse brain and other tissues. *Neurobiology*, 1997; 94: 7001-5.
- Franks S. Growth hormone and ovarian function. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*, 1998; 12: 331-40.
- Frisch R., Revelle R.: Height and weight at menarche and hypothesis of critical body weights and adolescent events. *Science* 197; 169: 397 – 399.
- Galtier-Dereure F, Montpeyroux F, Boulot P, et al. Weight excess before pregnancy: complications and cost. *Int J Obes Rel Metab Disord*, 1995; 19: 443-8.
- Garcia MC, Casanueva FF, Dieguez C, Senaris RM. Gestational profile of leptin messenger ribonucleic acid (mRNA) content in the placenta and adipose tissue in the rat, and regulation of the mRNA levels of the leptin receptor subtypes in the hypothalamus during pregnancy and lactation. *Biol Reprod*, 2000; 62: 698-703.
- Garcia-Mayor RV, Andrade MA, Rios M, et al. Serum leptin levels in normal children: relationship to age, gender, body mass index, pituitary-gonadal hormones and pubertal stage. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997; 82: 2849-55.
- Glasow A, Haidan A, Hilbers U, et. Expression of Ob receptors in normal human adrenals: differential regulation of adrenocortical and adrenomedullary function by leptin. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998; 83: 4459-67.
- Goumenou A, Matalliotakis I, Koumantakis G, Panidis D: The role of leptin in fertility. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2003; 106: 118-124.
- Gross P, Werhaya G, Seng G. Obesite: epidemiologie et risques de l'obesite. *Rev Prat*, 1989; 39: 2355-60.
- Guan XM, Hess JF, Yu H, Hey PJ, van der Ploeg LH. Differential expression of mRNA for leptin receptor isoforms in the rat brain. *Mol Cell Endocrinol*, 1997; 133: 1-7.
- Hakansson ML, Brown H, Ghilardi N, et al. Leptin receptor immunoreactivity in chemically defined target neurons of the hypothalamus. *J Neurosci*, 1998; 18: 559-72.
- Hardie L, Trayhurn P, Abramovich D, Fowler P. Circulating leptin in women: a longitudinal study in the menstrual cycle and during pregnancy. *Clin Endocrinol*, 1997; 47: 101-6.
- Hartz AJ, Barboriak PN, Wong A, et al. The association of obesity with infertility and related menstrual abnormalities in women. *Int J Obesity*, 1979; 3: 57-60.
- Hassink SG, de Lancey E, Sheslow DV, et al. Placental leptin: an important new growth factor in intrauterine and neonatal development? *Pediatrics*, 1997; 100: E1-E6.
- Henson MC, Castracane VD. Leptin in pregnancy. *Biol Reprod*, 2000; 63: 1219-28.
- Highman TJ, Friedman JE, Huston LP, et al. Longitudinal changes in maternal serum leptin concentrations, body composition and resting metabolic rate in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 1998; 178: 1010-5.
- Hoggard N, Hunter L, Duncan JS, et al. Leptin and leptin receptor mRNA, and protein expression in the murine fetus, and placenta. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997; 94: 11073-8.
- Jakubowicz DJ, Nestler JE. 17-alpha hydroxyprogesterone responses to leuprolide and serum androgens in obese women with and without polycystic ovary syndrome after dietary weight loss. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997; 82: 556-60.
- Jaquet D., Leger J., Levy Marchal C., et al. Ontogeny of leptin in human fetuses and newborns: Effect of intrauterine growth retardation on serum leptin concentrations. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 1243 – 1246.
- Kaltsas T, Pontikides N, Krassas GE et al. Growth hormone response to thyrotropin releasing hormone in women with polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod*, 1999; 14: 2704-8.
- Karlsson C, Lindell K, Svenssen E, et al. Expression of functional leptin receptors in the human ovary. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997; 82: 4144-8.
- Kaseki H., Maruyama S., Ishihara K., Araki T.: Serum leptin concentration in young adult women with ovulatory dysfunction. *J Nippon Med Sch* 2003; 70: 270- 273.

45. Kirel B, Tekin N, Tekin B, et al: Cord blood leptin levels: relationship to body weight, body mass index, sex and insulin and cortisol levels of maternal –newborn pairs at delivery. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2000; 13: 71-77.
46. Knochenhauer ES, Key TJ, Kahsar-Miller M et al. Prevalence of polycystic ovary syndrome in unselected black and white women of southeastern United States: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998; 83: 3078-82.
47. Lage M., Garcia-Mayor R.V., Tome M.A., et al: Serum leptin levels in women throughout pregnancy and the postpartum period and in women suffering from spontaneous abortion. *Clin Endocrinol* 1999; 50: 211 – 216.
48. Lahlou N, Landais P, De Boissieu D, Bougneres PF. Circulating leptin in normal children and during the dynamic phase of juvenile obesity: relation to body fatness, energy metabolism, caloric intake, and sexual dimorphism. *Diabetes*, 1997; 46: 989-93.
49. Le Thai N, Lefebvre G, Stella V, Vauthier D, Sfoggia D, Goulon V, Darbois J. Grossesse et obésité. A propos d'une étude cas-temoin de 140 cas. *J Gynecol Obstet Biol Reprod*, 1992; 21: 563-7.
50. Lebrethon MC, Vandersmissen E, Gerard A, et al. Cocaine and amphetamine-regulated transcript peptide mediation of leptin stimulatory effect on the rat gonadotropin-releasing hormone pulse generator in vitro. *J Neuroendocrinol*, 2000; 12: 383-5.
51. Lepercq J, Cauzac M, Lahlou N, et al Over-expression of placental leptin in diabetic pregnancy: a critical role for insulin. *Diabetes*, 1999; 47: 847-50.
52. Löffler S., Aust G., Kohler U., Spanel-Borowski K.: Evidence of leptin expression in normal and polycystic human ovaries. *Mol Hum Reprod* 2001; 7: 1143-1149.
53. Lynn RB, Cao GY, Considine RV, et al. Autoradiographic localization of leptin binding in the choroid plexus of ob/ob and db/db mice. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, 219: 884-9.
54. Magni P, Vetter R, Pagano C, et al. Expression of a leptin receptor in immortalized gonadotropin-releasing hormone secreting neurons. *Endocrinology*, 1999; 140: 1581-5.
55. Mantzoros C.S., Flier J.S., Rogol A.D.: A longitudinal assessment of hormonal and physical alterations during normal puberty in boys. V. Rising leptin may signal the onset of puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 1066 – 1070.
56. Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N, et al. Non-adipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nature Med*, 1997; 3: 11029-33.
57. Micic D, Kenderesi A, Popovic V et al. Growth hormone response to GHRH, GHRP-6, and GHRH+GHRP-6 in patients with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol*, 1996; 45: 385-90.
58. Micic D, Sumarac-Dumaovic M, Macut Dj, et al Growth-hormone response to combined stimulation with GHRH plus GH-releasing peptide-6 in obese patients with polycystic ovary syndrome before and after short term fasting. *J Endocrinol Invest*, 2003; 26: 333-40.
59. Mix H, Widjaja A, Jandl O, et al. Expression of leptin and leptin receptor isoforms in the human stomach. *Gut*, 2000; 47: 481-6.
60. Morales AJ. Role of growth hormone in polycystic ovarian syndrome. *Semin Reprod Endocrinol*, 1977; 15: 177-82.
61. Mounzih K, Lu R, Chebab FF. Leptin treatment rescues the sterility of genetically obese ob/ob males. *Endocrinology*, 1997; 138: 1190-3.
62. Nagatani S, Guthikonda P, Thompson RC, et al. Evidence for GnRH regulation by leptin: leptin administration prevents reduced pulsatile LH secretion during fasting. *Neuroendocrinology*, 1998; 67: 370-6.
63. Norman RJ, Clark AM. Obesity and reproductive disorders: a review. *Reprod Fertil Dev*, 1998; 10: 55-63.
64. Parent AS, Lebrethon MC, Gerard A, et al. Leptin effects on pulsatile gonadotropin releasing hormone secretion from the adult rat hypothalamus and interaction with cocaine and amphetamine-regulated transcript peptide and neuropeptide Y. *Regul Pept*, 2000; 92: 17-24.
65. Pettigrew R, Hamilton-Fairley D. Obesity and female reproductive function. *British Medical Bulletin*, 1997; 53: 341-58.
66. Remsberg K.E., Talbot E.O., Zborowski J.V., et al: Evidence for competing effects of body mass, hyperinsulinemia, insulin resistance, and androgens on leptin levels among lean, overweight, and obese women with polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility* 2002; 78: 479- 486.
67. Sagawa N., Yura S., Itoh H., et al.: Possible role of placental leptin in pregnancy: a review. *Endocrine* 2002; 19: 65-71.
68. Strobel A., Issad T., Camoin L., et al.: A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. *Nat Genet* 1998; 18: 213-215.
69. Tamura T, Goldenberg RL, Johnston JE, Cliver SP. Serum leptin concentrations during pregnancy and their relationship to fetal growth. *Obstet Gynecol*, 1998; 91: 389-95.
70. Yamada M, Irahara M, Tezuka M, et al: Serum leptin profiles in the normal menstrual cycles and gonadotropin treatment cycles. *Gynecol Obstet Invest* 2000; 49: 119-123.
71. Yu WH, Kimura M, Walczewska A, et al: Role of leptin in hypothalamic-pituitary function. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997; 94: 1023-8.
72. Zamorano PL, Mahesh VB, De Sevilla LM, et al: Expression and localisation of the leptin receptor in endocrine and neuroendocrine tissues of the rat. *Neuroendocrinology*, 1997; 65: 223-8.
73. Zhang Y, Stern B, and Rebar RW. Endocrine comparison of obese menstruating and amenorrheic women. *J Clin Endocrinol Metab*, 1984; 58: 1077-83.