

تعیین رابطه نسبت سطوح خونی لپتین غیرناشتای سرم به BMI و لپتین مایع فولیکولی با نتیجه ART

لیلی صفدریان (M.D.)^۱، الهه مسیبی (M.D.)^۲، ابراهیم جوادی (Ph.D.)^۳، محمدباقر لاریجانی (M.D.)^۴، رامین حشمت (M.D.)^۵، افسانه خادمی (M.D.)^۶، اشرف آل یاسین (M.D.)^۱، مرضیه آقاسینی (M.D.)^۱

- ۱- دانشیار، بخش درمان ناباروری، بیمارستان دکتر شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تهران، تهران، ایران.
- ۲- دستیار زنان و زایمان، بخش درمان ناباروری، بیمارستان دکتر شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تهران، تهران، ایران.
- ۳- دانشیار، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، بیمارستان دکتر شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تهران، تهران، ایران.
- ۴- استاد، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، بیمارستان دکتر شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تهران، تهران، ایران.
- ۵- دانشجوی دکتری اپیدمیولوژی، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، بیمارستان دکتر شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تهران، تهران، ایران.
- ۶- استادیار، بخش درمان ناباروری، بیمارستان دکتر شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تهران، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به بار مالی و روانی که تکنیک‌های کمک باروری (ART) به زوجین نابارور تحمیل می‌کند، پیش‌بینی نتایج آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. با توجه به مطالعات قبلی، سطح لپتین می‌تواند با باروری ارتباط داشته باشد. لذا هدف از انجام این مطالعه بررسی ارتباط سطح لپتین سرم، لپتین مایع فولیکولی و نسبت سطح سرمی لپتین به شاخص توده بدنی (BMI) با نتایج تکنیک‌های کمک باروری بود.

روش بررسی: ۹۹ خانم غیرمبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک (PCO) از بیماران نابارور مراجعه کننده به بیمارستان دکتر شریعتی در نیمه اول سال ۸۴ انتخاب و تحت تحریک تخمدانی با پروتکل طولانی مدت قرار گرفتند. لپتین سرم در روز شروع تجویز گنادوتروپین و لپتین مایع فولیکولی در روز دریافت اووسیت اندازه‌گیری شد و نتایج حاصله در دو گروه باردار و غیرباردار با نرم افزار SPSS و آزمون t مورد مقایسه قرار گرفت. $p < 0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج: میانگین هندسی لپتین سرم در گروه غیرباردار $16/42 \pm 1/68 ng/ml$ و در گروه باردار $14/09 \pm 2/20 ng/ml$ بود. لپتین مایع فولیکولی در گروه غیرباردار $8/73 \pm 2/56 ng/ml$ و در گروه باردار $11/07 \pm 2/76 ng/ml$ و نسبت لپتین سرم به BMI نیز در دو گروه به ترتیب $64 \pm 1/62$ و $55 \pm 2/04$ بود که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت. نتیجه‌گیری: براساس نتایج این تحقیق، لپتین سرم و مایع فولیکولی و نیز نسبت لپتین به BMI نمی‌تواند پیش‌بینی‌کننده نتایج ART باشد و در حال حاضر نمی‌توان به‌عنوان یک عامل پیش‌بینی‌کننده مورد اندازه‌گیری قرار گیرد. ضمناً پیشنهاد می‌شود مطالعات بعدی در گروه‌های همگن‌تری از نظر علت ناباروری و تعداد افراد انجام شود.

کلید واژگان: ناباروری، تکنیک‌های کمک باروری، لپتین، شاخص توده بدنی، مایع فولیکولی، تحریک تخمک‌گذاری.

مسئول مکاتبه: دکتر الهه مسیبی، بخش درمان ناباروری، بیمارستان دکتر شریعتی، خیابان کارگر شمالی، تهران، ایران.

پست الکترونیک: elmosby@yahoo.com

زمینه و هدف

پیش از انجام هر روش کمک باروری پزشکان و متخصصین درمان ناباروری همواره با سؤالی بگرنج روبرو هستند: "شانس موفقیت در این بیمار چه اندازه است؟" اهمیت این سؤال با توجه به هزینه انجام این روشها دوچندان می‌شود. در این خصوص عواملی کلی مانند سن بالای خانم‌های داوطلب یا FSH بیشتر از 10 ng/ml به عنوان عوامل پیش‌بینی‌کننده منفی مطرح هستند (۱). اما آیا مسیر یا فاکتورهای دیگری نیز برای پیش‌بینی نتایج وجود دارد؟

لپتین هورمونی پپتیدی با وزن 16 kD است که به طور اختصاصی از سلول‌های چربی ترشح شده و روی نورون‌های سیستم اعصاب مرکزی برای تعدیل مصرف انرژی و تنظیم عادات غذایی اثر می‌گذارد (۲). غلظت لپتین در گردش به طور قوی با پارامترهای چاقی بدن مانند شاخص توده بدنی (BMI) در ارتباط است (۱۲). شواهد اخیر نشان می‌دهد که لپتین نقشی بالقوه‌ای به عنوان تنظیم‌کننده مستقیم عملکرد تخمدانی دارد (۳). لپتین، استروئیدوژنز تحریک شده توسط انسولین، فاکتور رشد شبه انسولین و گنادوتروپین‌ها را در گاو (۴)، رت (۵) و انسان (۶) تعدیل می‌کند. بیان لپتین و گیرنده‌های آن روی تخمدان انسان گزارش شده است (۷). علاوه بر این تمرکز لپتین روی تخمکها و جنینها تازه تقسیم شده به روش‌های ایمونوسیتوشیمی گزارش شده است (۸). این نتایج حاکی از آن هستند که ممکن است سلول‌های فولیکولی، تخمکها و جنین‌های اولیه قبل از لانه‌گزینی هدف عمل مستقیم لپتین باشند.

به دنبال کشف لپتین و گیرنده‌های آن در فولیکول‌های انسان، سلول‌های گرانولوزا و سلول‌های کومولوس و مشخص شدن تأثیر لپتین روی ترشح هورمون آزادکننده گنادوتروپین‌ها توجه به نقش لپتین در فیزیولوژی تولیدمثل افزایش یافته است (۲). اخیراً

تحقیقات متعددی در خصوص نقش لپتین در سیکل‌های کمک باروری انجام شده است. برای مثال در یک مطالعه نشان داده شده است که افزایش قابل توجه لپتین با پاسخ بد تخمدانها به گنادوتروپینها همراه است (۹). به‌علاوه لپتین ممکن است روی نتایج IVF اثر بگذارد. در تحقیق انجام شده توسط Mantzoros و همکاران، بیمارانی که متعاقب IVF باردار شده بودند، دارای غلظت پایین‌تر لپتین در مایع فولیکولی در مقایسه با افراد دارای سیکل ناموفق بودند (۱۰).

همچنین Barroso و همکاران عنوان کردند که غلظت پایین لپتین مایع فولیکولی به طور معکوس با فشار اکسیژن داخل فولیکولی ارتباط داشته است که ممکن است اثر منفی روی رشد و بلوغ تخمک داشته باشد (۱۱). در مطالعه Brannian و همکاران در حالی که غلظت لپتین سرم ارتباط مشخصی با بارداری داشت، نسبت لپتین سرم به BMI رابطه قویتری را نشان داد. برخلاف آن BMI به تنهایی ارتباطی با بارداری نداشت و اختلافی فاحش بین میزان بارداری با میزان پایین‌تر لپتین به BMI ($0.1-0.2$) در مقایسه با میزان بالاتر لپتین به BMI (>0.8) وجود داشت. یافته‌ها پیشنهاد کننده این موضوع هستند که نسبت لپتین به BMI بزرگتر یا مساوی 0.7 آستانه پیش‌بینی نتایج ضعیف‌تر موفقیت در بارداری است (۱۲).

بسیاری از مطالعات مؤید اثر لپتین بر نتایج ART هستند. در مطالعه Anifandis و همکاران میزان پایین‌تر لپتین سرم و مایع فولیکولی با میزان بیشتری از لانه‌گزینی و بارداری همراه بود (۱۳).

اما Chen و همکاران و همچنین Robins و همکاران هیچ رابطه‌ای را بین لپتین سرم و نتایج IVF مشاهده نکردند (۱۴، ۱۵).

لذا هدف ما در این مطالعه تعیین ارتباط نتایج ART با نسبت سطح خونی لپتین به BMI و همچنین لپتین مایع فولیکولی بود.

1- Body Mass Index

روش بررسی

این مطالعه از نوع مطالعات هم گروهی^۱ بود و به صورت آینده‌نگر^۲ انجام گرفت. کلیه بیماران مراجعه‌کننده به بخش درمان ناباروری بیمارستان دکتر شریعتی تهران در نیمه اول سال ۱۳۸۴ که معیارهای ورود مطالعه در مورد ایشان صدق می‌کرد وارد مطالعه شدند.

معیارهای ورود به مطالعه: بیماران کاندیدای ART که در محدوده سنی ۲۰-۳۹ سال قرار داشتند.

معیارهای خروج از مطالعه: الف) بیماران مبتلا به PCO که با شرح حال آمنوره یا الیگومنوره به دلیل عدم تخمک‌گذاری مزمن و یا با افزایش خفیف تستوسترون سرم (۲۰۰-۸۰ μg) مراجعه کرده بودند؛ چرا که ممکن است فیزیولوژی لپتین در بیماران PCO متفاوت باشد. ب) بیماران مبتلا به هرگونه بیماری زمینه‌ای اعم از دیابت، فشار خون بالا، بیماری کلیوی، قلبی و ... ج) سابقه حداقل ۲ بار شکست در ART. د) اهدای جنین^۳. ه) اهدای تخمک^۴.

روش جمع‌آوری داده‌ها از طریق پرکردن پرسشنامه بود. به این ترتیب که اطلاعات دموگرافیک بیمار از پرونده استخراج و در پرسشنامه درج شد. درمان‌های ناباروری انجام شده برای بیمار و نتایج گزارش شده از آزمایشگاه مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم نیز در پرسشنامه ثبت گردید.

نمونه‌های سرم در گروه مورد مطالعه بین ساعت ۸ تا ۱۰ صبح به صورت غیرناشتا در روز اول تزریق گنادوتروپین (روز سوم قاعدگی) گرفته شد و به آزمایشگاه مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم بیمارستان دکتر شریعتی تهران ارسال گردید. به طور همزمان قد و وزن بیماران در بخش درمان ناباروری بیمارستان

توسط پرستار مسئول اندازه‌گیری و BMI با استفاده از فرمول وزن بر حسب کیلوگرم تقسیم بر مجذور قد برحسب متر محاسبه شد. نمونه‌های مایع فولیکولی نیز در روز دریافت تخمک از فولیکول‌های تخلیه شده جمع‌آوری و به آزمایشگاه مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم ارسال شد. کلیه نمونه‌های ارسالی در آن مرکز تا زمان انجام آزمایش در دمای 70°C نگهداری شدند.

غلظت لپتین به روش ELISA و با استفاده از کیت لپتین (DRG, Germany) و بوسیله دستگاه ELISA Reader نوع SLE Spectra اندازه‌گیری و نتیجه آن در پرسشنامه ثبت شد و داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل گردیدند. $p < 0.05$ معنی‌دار تلقی شد و برای بیان اختلافها از آزمون t استفاده گردید. لازم به ذکر است چون لپتین توزیع نرمال نداشت بنابراین از تغییر متغیر لپتین در پایه لگاریتم طبیعی استفاده شد و با توجه به نرمال شدن آن، از آزمون پارامتری استفاده شد. لذا در تمام مواردی که مقایسه نتایج حاصله از آزمایشات مربوط به لپتین در قسمت نتایج ذکر شده است منظور مقایسه متغیر تغییر یافته در لگاریتم نپیرین و نه مقایسه میانگین‌های هندسی بوده است.

شایان ذکر است که ادامه بارداری تا سه ماهه دوم به عنوان نتیجه مثبت درمان در نظر گرفته شد.

نتایج

اطلاعات دموگرافیک ۹۹ بیمار تحت بررسی در جدول ۱ ذکر شده است. میانگین سنی $31/26 \pm 4/2$ سال برای بیماران با توجه به اینکه بخش درمان ناباروری بیمارستان دکتر شریعتی یک بخش ارجاعی برای درمان ناباروری است قابل توجه می‌باشد.

از این بیماران ۸۵/۹٪ ناباروری اولیه و ۱۴/۱٪ ناباروری ثانویه داشتند. علت ناباروری در ۳۵٪ موارد

- 1- Cohort
- 2- Prospective
- 3- Embryo donation
- 4- Egg donation

جدول ۱- اطلاعات دموگرافیک ۹۹ زن نابارور مراجعه‌کننده به بخش درمان ناباروری بیمارستان دکتر شریعتی تهران، نیمه اول سال ۱۳۸۴

متغیر	حداقل	حداکثر	میانگین \pm انحراف معیار
سن (سال)	۲۳	۳۹	۳۱/۲۶۲۶ \pm ۴/۲۰۵۴۰
قد (cm)	۱۴۸	۱۷۶	۱۶۰/۱۶۱۶ \pm ۶/۲۰۸۴۷
وزن (kg)	۴۲	۹۲	۶۶/۶۰۶۱ \pm ۱۰/۳۵۸۲۰
BMI (kg/cm^2)	۱۶/۸	۲۴/۵	۲۵/۸۹۸۰ \pm ۳/۶۵۱۲۲

عامل مردانه، ۳۳٪ عامل زنانه و ۲۶٪ ناشناخته بود. همچنین ۲۸/۴٪ از بیماران سابقه ART قبلی داشتند و ۶۱/۶٪ فاقد سابقه قبلی ART بودند.

روش انتقال سلول تخم در ۳۹/۴٪ از بیماران لوله‌ای (ZIFT) و در ۵۳/۵٪ رحمی (ET) بود و در ۷ نفر از بیماران به دلیل به دست نیامدن تخمک و یا عدم تقسیم و پیشرفت جنین انتقال انجام نشد. روش تحریک تخمدانی در تمامی بیماران پروتکل طولانی مدت^۲ بود و میانگین روزهای تحریک تخمدانی ۱۰/۵۶ \pm ۱/۵۷ روز بدست آمد. میانگین تخمک‌های بدست آمده ۷/۰۶ \pm ۳/۹۶ عدد و میانگین جنین منتقل شده ۳/۶۶ \pm ۱/۵۵ عدد بود. مجموعاً ۲۷ نفر از بیماران باردار شدند که از این تعداد یک مورد منجر به بارداری خارج رحمی و دو مورد منجر به سقط شد. ۲۴ مورد نیز نتیجه مثبت (ادامه بارداری تا سه ماهه دوم) گزارش شد. نتایج آزمایشات بیمارانی که دچار سقط یا بارداری خارج رحمی شدند در گروه غیرباردار مورد بررسی قرار گرفت.

میانگین هندسی لپتین سرم در گروه غیرباردار ng/ml ۱۶/۴۲ \pm ۱/۶۸ و در گروه باردار ng/ml ۱۴/۰۹ \pm ۲/۲۰ بود که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود. میانگین هندسی لپتین مایع فولیکولی در گروه غیرباردار ng/ml ۸/۷۳ \pm ۲/۵۶ و در گروه باردار ng/ml ۱۱/۰۷ \pm ۲/۷۶ بود که این تفاوت نیز از نظر آماری معنی‌دار نبود. میانگین هندسی نسبت لپتین سرم به BMI در گروه غیرباردار ng/ml ۰/۷۶ \pm ۱/۶۱ و در

گروه باردار ng/ml ۰/۵۵ \pm ۲/۰۴ بدست آمد که از نظر آماری معنی‌دار نبود.

بحث

در این بررسی میانگین هندسی لپتین سرم، لپتین مایع فولیکولی و نسبت لپتین سرم به BMI در دو گروه باردار و غیرباردار تفاوت معنی‌داری از نظر آماری نداشت. این بر خلاف نتایج به دست آمده توسط Brannian و همکاران (۱۲) در سال ۲۰۰۱ بود. در آن مطالعه نیز بیماران PCO حذف شده بودند و طراحی مطالعه کاملاً مشابه مطالعه حاضر بود؛ اما آنان نسبت لپتین سرم به BMI پایین‌تری را در گروه با نتایج مثبت ART به دست آورده بودند. همچنین در آن مطالعه نسبت لپتین سرم به BMI کمتر از ۰/۷ با نتایج بهتری همراه بوده است؛ اما در مطالعه حاضر عدد جدا کننده‌ی بدست نیامد. Mantzoros و همکاران (۱۰) نیز میزان پایین‌تری از لپتین مایع فولیکولی را در گروه حامله به دست آورده بودند.

نظر به این که طراحی این مطالعه بسیار شبیه مطالعه Brannian و همکاران بود چه عاملی می‌تواند توجیه‌کننده این تفاوت باشد؟ در آن مطالعه مانند مطالعه کنونی بیماران با عامل مردانه حذف نشده بودند. ممکن است در آن مرکز مانند بیمارستان دکتر شریعتی موارد شدید ناباروری مردانه تحت درمان قرار نگیرند. به نظر می‌رسد انجام کارهای کمک باروری برای بیماران با عامل مردانه شدید در نتایج تأثیرگذار باشد. اما نتایج بدست آمده در مطالعه انجام شده تنها نتایج منفی در خصوص رابطه لپتین و نتایج ART نیستند.

در مطالعه انجام شده توسط Robins و همکاران (۱۴) در سال ۲۰۰۵ سطوح لپتین سرمی در روزهای شروع تحریک تخمدانی و همچنین روز تزریق HCG پیش‌بینی‌کننده نتایج IVF نبوده‌اند. همچنین در مطالعه

1- Zygote Intra Fallopian Transfer
2- Long protocol

که از نظر علت ناباروری به صورت همگون‌تر انتخاب شده‌اند و با توجه بیشتر به استرادیول سرم انجام گردد؛ چرا که در مطالعه انجام شده، احتمالاً عامل مردانه شدید یک عامل مخدوش‌کننده بوده است و همچنین در مطالعات جدید توجه بیشتر به اعمال نقش لپتین از طریق اثر بر استرادیول معطوف شده است.

تشکر و قدردانی

شایان ذکر است این مطالعه در شورای پژوهشی گروه زنان دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران و همچنین مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم آن دانشگاه تصویب شد. بدینوسیله از زحمات و همکاری بیدریغ پرسنل محترم بخش درمان ناباروری بیمارستان دکتر شریعتی تهران به‌خصوص سرکار خانمها امراللهی، عباسی، رضاییان، عیوضی و سرآبادانی و همچنین سرکار خانم غزنوی و جناب آقای فراهانی از مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران تشکر و قدردانی می‌گردد.

انجام شده توسط Chen و همکاران (۱۵) در سال ۲۰۰۴ نیز گرچه لپتین سرم طی انجام تحریک تخمدانی برای IVF افزایش یافته بود؛ اما هیچ رابطه‌ای بین لپتین سرم یا مایع فولیکولی با نتایج IVF وجود نداشته بوده است، اما احتمال ارتباط آن با میزان استرادیول مطرح شده است.

بنابراین با توجه به این نتایج به نظر نمی‌رسد که لپتین سرم و لپتین مایع فولیکولی و یا نسبت لپتین سرم به BMI بتواند ارزش پیشگویی کننده‌ای برای نتایج ART دارا باشد. اما با توجه به بیان گیرنده‌های لپتین روی فولیکول‌های انسانی و سلول‌های گرانولوزا (۲) ممکن است لپتین از طریق اثری که روی استروئیدوژنز می‌گذارد بتواند بر نتایج ART تأثیرگذار باشد.

نتیجه‌گیری

اندازه‌گیری لپتین سرم و مایع فولیکولی و نسبت لپتین به BMI به‌عنوان یک عامل پیشگویی‌کننده قبل از اعمال کمک باروری پیشنهاد نمی‌شود؛ اما پیشنهاد می‌شود که مطالعه روی لپتین و اثر آن بر نتایج ART در بیمارانی

References

- 1- Pellestor F., Andro B., Arnal F., Humeau C., Demaille J. Maternal aging and chromosomal abnormalities: new data drawn from in vitro unfertilized human oocytes. *Hum Genet.* 2003;112(2): 195-203.
- 2- Tsai E.M., Yang C.H., Chen S.C., Liu Y.H., Chen H.S., et al. Leptin affects pregnancy outcome of in vitro fertilization and steroidogenesis of human granulosa cells. *J Assist Reprod Genet.* 2002;19(4): 169-76.
- 3- Clarke I.J., Henry B.A. Leptin and reproduction. *Rev Reprod.* 1999;4(1):48-55.
- 4- Spicer L.J., Francisco C.C. The adipose obese gene product, Leptin: evidence of a direct inhibitory role in ovarian function. *Endocrinology.* 1997;138(8):3374-9.
- 5- Zachow R.J., Magoffin D.A. Direct intraovarian effects of leptin: impairment of synergistic action of insulin-like growth factor- I on follicle- stimulating hormone-dependent estradiol- 17 beta production by rat ovarian granulosa cells. *Endocrinology.* 1997;138(2):847-50.
- 6- Karlsson C., Lindell K., Svensson E., Bergh C., Lind P., et al. Expression of functional leptin receptors in the human ovary. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(12): 4144-8.
- 7- Cioffi J.A., Van Blerkom J., Antczak M., Shafer A., Wittmer S., et al. The expression of leptin and its receptors in pre-ovulatory human follicles. *Mol Hum Reprod.* 1997;3(6):467-72.
- 8- Antczak M., Van Blerkom J. Oocyte influences on early development: the regulatory proteins leptin and STAT3 are polarized in mouse and human oocytes and differentially distributed within the cells of the preimplantation stage embryo. *Mol Hum Reprod.* 1997;3(12): 1067-86.
- 9- Butzow T.L., Moilanen J.M., Lehtovirta M., Tuomi T., Hovatta O., et al. Serum and follicular fluid leptin during in vitro fertilization: relationship among leptin increase, body fat mass, and reduced ovarian response. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(9):3135-9.

- 10- Mantzoros C.S., Cramer D.W. Liberman R.F., Barbieri R.L. Predictive value of serum and follicular fluid leptin concentrations during assisted reproductive cycles in normal women and in women with the polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod.* 2000;15(3): 539-44.
- 11- Barroso G., Barrionuevo M., Rao P.P., Graham L., Danforth D., et al. Vascular endothelial growth factor, nitric oxide, and leptin follicular fluid levels correlate negatively with embryo quality in IVF patients. *Fertil Steril.* 1999;72(6):1024-6.
- 12- Brannian J.D., Schmidt S.M., Kreger D.O., Hansen K.A. Baseline non-fasting serum leptin concentration to body mass index ratio is predictive of IVF outcomes. *Hum Reprod.* 2001;16(9):1819-26.
- 13- Anifandis G., Koutselini E., Louridas K., Liakopoulos V., Leivaditis K., et al. Estradiol and leptin as conditional prognostic IVF markers. *Reproduction.* 2005; 129(4):531-4.
- 14- Robins J.C., Srivastava R., Mershon J.L., Thomas M.A. Association of leptin with poor ovarian stimulation during in vitro fertilization. *J Reprod Med.* 2005; 50(5):356-60.
- 15- Chen R., Fisch B., Ben-Haroush A., Kaplan B., Hod M., Orvieto R. Serum and follicular fluid leptin levels in patients undergoing controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization cycle. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2004;31(2):103-6.
- 16- Yang X.F., Huang H.F. Impact of leptin levels on outcome of in vitro fertilization- embryo transfer. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2002;31(3): 155-158. Chinese.