

Postavení leptinu v metabolismu kostní tkáně – co vlastně víme

M. BAYER¹, Š. KUTÍLEK²

¹Klinika dětského a dorostového lékařství 1. Lékařské fakulty UK Praha, ²Osteocentrum Fakultní nemocnice, Plzeň

SOUHRN

Bayer M., Kutílek Š.: **Postavení leptinu v metabolismu kostní tkáně – co vlastně víme**

Leptin je polypeptid o molekulové hmotnosti 14kDa, secernovaný tukovými buňkami. Uplatňuje se v signalizaci pocitu sytosti a negativní zpětnou vazbou tlumí adipogenezu. V poslední době je často diskutována možná role leptinu v metabolismu skeletu. Angiogenním a osteogenním účinkem na prekursor kostních buněk leptin stimuluje nárůst kostní hmoty ve fetálním období. Ve zralé kostní tkáni snižuje úroveň kostního obratu podporou exprese osteoprotegerinu buňkami stromatu a mononukleáry, u nichž indukuje i tvorbu antagonistů receptoru pro interleukin 1. Periferní aplikace leptinu pokusným zvířatům zvyšuje formaci kortikální kosti. Kromě přímého pozitivního vlivu na proliferaci chondrocytů a osteoblastů v periférii byl též prokázán nepřímý centrální účinek leptinu na receptory v hypothalamu, jejichž aktivace naopak vede k poklesu formace kostní hmoty. Výsledný účinek pak závisí na řadě faktorů včetně aktuálního stavu hematoencefalické bariéry. Studie s takřka šesti tisíci sledovanými jedinci neprokázala přímý vztah koncentrace leptinu v séru a denzity kostního minerálu, leptinémie spíše koreluje s obsahem kostního minerálu v jednotce objemu kostní hmoty a „body mass“ indexem.

Klíčová slova: leptin – kostní metabolismus.

SUMMARY

Bayer M., Kutílek Š.: **The role of leptin in bone metabolism – what do we know**

Leptin is a 14kDa polypeptide, produced by fat cells. Leptin plays a role in signalisation of satiety and inhibition of adipocytes differentiation by negative feedback. There exists a rich discussion on possible role of leptin in bone metabolism in literature. Leptin is able to induce bone tissue accumulation due to its angiogenic and osteogenic influence on bone cells precursors during fetal period. Leptin reduces bone turnover rate by increasing osteoprotegerin levels in human marrow stromal cells as well as mononuclear cells in mature bone tissue. Leptin directly induces the secretion of interleukin-1 receptor antagonist in human monocytes. Peripheral administration of leptin results in enhanced cortical bone formation while intracerebral administration to laboratory animals results in decreasing bone formation through hypothalamic receptors activation. Final effect depends on numerous factors including actual blood-brain barrier status. In study with nearly six thousand participants, serum leptin concentration did not appear to affect directly bone mineral density. Association was found between serum leptin concentration and bone mineral content and body mass index.

Key words: leptin – bone metabolism.

Osteologický bulletin 2003;8(4):135–137

Adresa: Doc. MUDr. Milan Bayer, CSc., Klinika dětského a dorostového lékařství 1. Lékařské fakulty UK, Ke Karlovu 2, 128 08 Praha 2, tel.: 224 967 804, e-mail mbayer@LF1.cuni.cz

Došlo do redakce: 5. 11. 2003

Předneseno na 6. Kongresu českých a slovenských osteologů (České Budějovice 19.–21. 10. 2003)

Úvod

Není sporu o tom, že udržování přiměřené tělesné hmotnosti je pro prevenci osteoporózy velmi důležité. Nízká hmotnost je dnes řazena k rizikovým faktorům, které přispívají ke vzniku osteoporotických zlomenin [1]. Zavedení dvouenergie rentgenové absorpciometrie do široké praxe vedlo již v uplynulém desetiletí k poznatku, že množství tukové tkáně dobře koreluje s BMD [2] i s incidencí fraktur [3]. Vztah mezi tukovou tkání a BMD však stále není zcela objasněn. Diskutovalo se o vlivu biomechanické zátěže skeletu při vyšší tělesné hmotnosti a s tím spojené svalové práce. To ale nevysvětlí obdobnou závislost na místech skeletu, která hmotnost těla nenesou [4]. Úvahy o adipocytech jako hlavních postmenopauzálních producentech estrogenů (periferní aromatizací adrenálních androgenů) neobjasňují vztahy BMD a tukové tkáně u premenopauzálních žen, u nichž tvorba estrogenů tukovými buňkami významná není. Nelze ani vyloučit, že hodnoty BMD jsou při obezitě ovlivněny nepřímo, nejspíše hormonální cestou. Množství tukové tkáně ovlivňuje koncentraci inzulínu, jehož účinky na skelet jsou známy. Beta buňky pankreatických ostrůvků secernují i amylin, který přímo stimuluje aktivitu osteoblastů a tlumí osteoklastickou resorpci kostí [5]. Dalším objektem zájmu osteologů se logicky stal hlavní hormonální produkt adipocytů – leptin.

Charakteristika leptinu

Leptin je protein o molekulové hmotnosti 14kDa. Jeho plazmatické koncentrace významně korelují s množstvím tukové tkáně v organismu [6], neboť z převážné části pochází z periferních adipocytů. Může však být tvořen i jinými buňkami, například v placentě [7] nebo také zralými osteoblasty [8]. Leptin cirkuluje v oběhu a po přechodu hematoencefalickou bariérou působí v hypothalamu, kde ovlivňuje regulaci příjmu potravy a výdej energie. Kromě toho v periférii tlumí diferenciaci adipocytů a stárání tuku [9]. Též bylo prokázáno, že leptin modifikuje imunologickou reakci T-lymfocytů a ruší imunosupresivní účinek hladovění [10], přímo podporuje vývoj kmenových buněk kostní dřeně [11] i buněk plicní tkáně [12] a má angiogenní vliv na buňky endotelu cév [13]. Může také ovlivnit mnohé endokrinní funkce: sekreci předního laloku hypofýzy [14], ovárií [15], testes [16], štítné žlázy a nadledvin [17].

Leptin a kostní tkáň

Receptor pro leptin byl nalezen na lidských mezenchymálních kmenových buňkách, které prodělávají osteogenní transformaci [18], na osteoblastech zvířecích [19] i lidských [20] a také na zvířecích chondrocytech [21]. Na leptin reagují i chondrocyty růstové ploténky v místech průniku cév do primární chrupavčité tkáně

[22]. Recentní laboratorní výzkumy dokládají, že leptin ovlivňuje rovnováhu OPG/RANKL stimulací tvorby OPGmRNA (až 2,5x) a snížením hladin RANKLmRNA (až trojnásobně) a v závislosti na dávce podporuje sekreci OPG izolovanými buňkami stromatu lidské kostní dřeně [23] i mononukleáry [24].

Leptin v pokusu zvyšuje proliferaci izolovaných chondrocytů a fetálních osteoblastů srovnatelně s IGF-I, podporuje diferenciaci kmenových buněk kostní dřeně na osteoblasty a stimuluje tvorbu proteinů kostní matrix [25,26]. V buněčných kulturách snižuje diferenciaci nových osteoklastů u zvířat [25] i lidí [24], na již zralé osteoklasty však vliv zřejmě nemá. U lidských monocytů indukuje tvorbu antagonistů receptoru IL-1 [27], což vede k potlačení IL-1 zprostředkovaného vzestupu kostního obratu, který je považován za jeden z klíčových dějů při ztrátě kostní hmoty u deficitu estrogenů.

Je-li leptin podáván laboratorním zvířatům do periferie, dochází u leptin-deficitních myší k nárůstu kostní hmoty a ke zvětšení kostí [21], navzdory významnému poklesu příjmu potravy a snížení tělesné hmotnosti. Podobné změny byly pozorovány u leptin-resistentních zvířat [28]. Celkové podávání leptinu dokázalo zabránit ztrátě kostní hmoty při imobilizaci [29] a u ovariectomovaných krys mělo protektivní účinek na kostní mikroarchitekturu se zachováním počtu trámčů v trabekulární kosti [23]. „Leptinová“ zvířata mají větší růstové ploténky a při mechanickém testování pevnosti jejich kosti dopadají významně lépe než u zvířat kontrolních. Histomorfometricky žádné signifikantní odchylky nalezeny nebyly, předpokládá se tedy, že kostní fragilita je v tomto případě ovlivněna změnou kostní architektury [25]. U novorozenech selat se mechanické vlastnosti kosti podařilo zlepšit již týdenním podáváním leptinu v dávce 2 ug/kg/den [30].

Intracerebrální aplikace leptinu pokusným zvířatům však přinesla překvapivé výsledky. U leptin-deficitních i normálních myší dochází k významné ztrátě kostní hmoty [31]. Aktivita osteoblastů klesá a snižuje se tvorba kostní matrix [32]. Proliferace osteoblastů však tangována není [33]. Modulátorem účinku leptinu v hypothalamu se zdá být neuropeptid Y – vyrazení specifických Y receptorů v hypothalamu má za následek stimulaci osteoblastů a zvýšení formace kosti [34]. Kromě toho vedou změny koncentrace leptinu cestou CNS ke změnám tonu sympatiku. Beta adrenergní receptory na osteoblastech regulují jejich aktivitu a beta adrenergní agonisté snižují množství kostní hmoty, zatímco beta adrenergní antagonisté zvyšují tvorbu kostní hmoty u neoperovaných i ovariectomovaných zvířat [35]. Existuje tedy neuronální regulace kostní formace.

Pozorování u lidí

Zvýšené koncentrace cirkulujícího leptinu byly u lidí nalezeny ve fyziologických situacích, spjatých s nárůstem hmotnosti, například v pubertě, nebo graviditě [36,37]. Dosud publikované práce ukázaly, že koncentrace leptinu v pupečnickové krvi novorozence pozitivně koreluje s porodní délkou [38], porodní hmotností [39] a má vztah k intrauterinnímu růstu plodu i po korekci na množství tukové tkáně, hmotnost placenty, hladinu inzulinu či koncentraci plazmatického leptinu v krvi matky [40]. Negativní závislost byla naopak popsána mezi plazmatickou koncentrací leptinu a biochemickými markery osteoresorpce u lidských plodů [41]. Lze tedy důvodně předpokládat, že leptin se u člověka podílí na regulaci vývoje skeletu již intrauterinně [42].

V posledních letech se v literatuře objevila řada studií, zabývajících se vztahy mezi plazmatickou koncentrací leptinu a stavem kostní tkáně u dospělých: u 139 japonských postmenopauzálních žen ve věku 48–78 let byly hladiny leptinu v krvi významně nižší u žen se zlomeninou obratle než u žen bez fraktury [43]. V této studii ukázala mnohočetná regresní analýza, že nikoli množství tukové tkáně, ale právě nízká koncentrace leptinu je významným faktorem existence zlomeniny. Přímá závislost leptinémie a obsahu minerálu v kostní tkáni femoru či páteře vůči hodnotě BMD axiál-

ního skeletu byla popsána u 214 australských žen ve věku 20–91 let, a to i po korekci na množství tukové tkáně [44]. Ve francouzské studii, již se účastnilo 107 postmenopauzálních žen ve věku 50–90 let, byla nalezena korelace nejen mezi koncentrací plazmatického leptinu vůči tělesné hmotnosti či BMI, ale také vůči celotělové BMD ($p < 0,001$), BMD proximálního femoru ($p < 0,05$), kostnímu izoenzymu alkalické fosfatázy v krvi ($p < 0,05$) a C-terminálním fragmentům kolagenu I. typu v moči ($p < 0,005$) [45]. V italské práci (100 postmenopauzálních žen, věk 62–97let; 31 mužů, věk 72–92let) pozorovali autoři významný vztah plazmatické koncentrace leptinu nejen s BMI ($p < 0,001$), ale i s aktivitou kostního izoenzymu alkalické fosfatázy ($p < 0,01$). Jde zřejmě o ovlivnění aktivity osteoblastů u seniorů obou pohlaví [46]. Závislost mezi množstvím tukové tkáně a celkovou BMD byla zjištěna v jiné italské studii u 171 žen a 92 mužů ve věku 68–75 let. Plazmatická koncentrace leptinu u nich významně korelovala s obsahem kostního minerálu a s BMD celotělovou i v proximálním femoru. Výsledky nezměnila ani korekce na procento tukové tkáně v těle. Lineární regresní analýza zde doložila významnou závislost mezi leptinemií a obsahem kostního minerálu či BMD nezávisle na věku [47]. Naproti tomu recentní porovnání koncentrace plazmatického leptinu u 90 postmenopauzálních žen s osteoporózou a u 30 premenopauzálních žen neprokázalo vztah leptinémie s BMD ani s markery kostního obratu [48]. Ve skupině 100 tureckých postmenopauzálních žen korelovaly koncentrace plazmatického leptinu s množstvím tukové tkáně a BMI, nikoli však s BMD [49]. U 215 postmenopauzálních žen v Japonsku našli autoři kromě očekávaného vztahu leptinémie a procenta tukové tkáně ($p < 0,0001$) závislost mezi koncentrací plazmatického leptinu a BMD Z-skóre dokonce významně negativní ($p < 0,0001$). Podle této práce vyšší hladiny cirkulujícího leptinu znamenají vyšší ztrátu kostní hmoty [50]. Zatím nejrozsáhlejší studie se v rámci NHANES III (Third U.S. National Health and Nutrition Examination Survey) zúčastnilo 5 815 osob (2 761 mužů, 1 906 premenopauzálních a 1 148 postmenopauzálních žen). BMD stoupala spolu se zvyšujícími se koncentracemi plazmatického leptinu u mužů ($p = 0,003$), premenopauzálních ($p < 0,001$) i postmenopauzálních žen ($p < 0,001$). Po korekci na BMI však výsledky pozbývají významnosti, u mužů vzniká vztah negativní. Zdá se, že plazmatická koncentrace leptinu ovlivňuje hodnotu BMD jen nepřímo. Práce však nebyla zaměřena na výskyt fraktur [51].

Závěr

Uvedené studie se uskutečnily za různých podmínek na odlišných vzorcích populace a neměly vždy shodný cíl. Dosažené výsledky tedy nejsou mezi sebou přímo porovnatelné a není možné na jejich základě stanovit obecně platné závěry. Nicméně si po shrnutí dostupných literárních údajů o vztahu leptinu a kostní tkáně dovolujeme vyslovit následující teze.

1. Leptin představuje funkční propojení mezi tukovou a kostní tkání.
2. Bezprostřední účinky leptinu na kostní tkáň v periférii zřejmě převažují nad nepřímými vlivy cestou CNS.
3. Přímý vliv leptinu na denzitu kostního minerálu není jednoznačně doložen, avšak jeho uplatnění ve vývoji a udržování kostní hmoty se zdá být nepochybné.
4. Dosud není k dispozici studie o vztahu plazmatické koncentrace leptinu a výskytu zlomenin, která by vyhověla kritériím „evidence based medicine“.

Užité zkratky:

BMD	bone mineral density, denzita kostního minerálu
BMI	body mass index
IGF-I	inzulinu podobný růstový faktor I
IL-1	interleukin 1
mRNA	messenger RNA

OPG osteoprotegerin
RANKL ligand receptoru-aktivátoru nukleárního faktoru kappa B

Literatura

- Greenspan SL, Myers ER, Maitland LA, et al. Fall severity and bone mineral density as risk factors for hip fracture in ambulatory elderly. *JAMA* 1994; 271:128–133.
- Reid IR, Plank LD, Evans MC. Fat mass is an important determinant of whole body bone density in premenopausal women but not in men. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75:782–790.
- Schott AM, Cormier C, Hans D, et al. How hip and whole-body bone mineral density predict hip fracture in elderly women: the EPIDOS prospective study. *Osteoporos Int* 1998;8:247–254.
- Reid IR, Ames R, Evans MC, et al. Determinants of total body and regional bone mineral density in normal postmenopausal women- a key role for fat mass. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75:45–51.
- Cornish J, Reid IR. Skeletal effects of amylin and related peptides. *Endocrinologist* 1999;9:183–189.
- Ruhl CE, Everhart JE. Leptin concentrations in the United States: Relations with demographic and anthropometric measures. *Am J Clin Nutr* 2001;74:295–301.
- Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N, et al. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta derived hormone in humans. *Nat Med* 1997; 2:1029–1033.
- Reseland JE, Syversen U, Bakke I, et al. Leptin is expressed in and secreted from primary cultures of human osteoblasts and promotes bone mineralisation. *J Bone Miner Res* 2001;16:1426–1433.
- Shimabukuro M, Koyama K, Chen G, et al. Direct antidiabetic effect of leptin through triglyceride depletion of tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94: 4637–4641.
- Lord GM, Matarese G, Howard LK, et al. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature* 1998;394: 897–901.
- Gainsford T, Willson TA, Metcalf D, et al. Leptin can induce proliferation, differentiation, and functional activation of hemopoietic cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:14564–14568.
- Tsuchiya T, Shimizu H, Horie T, Mori M. Expression of leptin receptor in lung: Leptin as a growth factor. *Eur J Pharmacol* 1999;365:273–279.
- Sierra-Honigsmann MR, Nath AK, Murakami C, et al. Biological action of leptin as an angiogenic factor. *Science* 1998;281:1683–1686.
- Yu WH, Kimura M, Walczewska A, et al. Role of leptin in hypothalamic-pituitary function. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:1023–1028.
- Spicer LJ, Francisco CC. The adipose obese gene product, leptin: Evidence of a direct inhibitory role in ovarian function. *Endocrinology* 1997;138:3374–3379.
- Caprio M, Isidori AM, Carta AR, et al. Expression of functional leptin receptors in rodent Leydig cells. *Endocrinology* 1999;140:4939–4947.
- Bornstein SR, Uhlmann K, Haidan A, et al. Evidence for a novel peripheral action of leptin as a metabolic signal to the adrenal gland: Leptin inhibits cortisol release directly. *Diabetes* 1997;46:1235–1238.
- Basilana F, Susa M, Keller HJ, Halleux C. Human mesenchymal stem cells undergoing osteogenic differentiation express leptin and functional leptin receptor. *J Bone Miner Res* 2000;15 (Suppl 1):378.
- Lee YJ, Park JH, Ko JS, Kim HM. Expression of signal-transducing leptin receptors on rat osteoblasts indicates a direct involvement of leptin in the regulation of bone formation. *J Bone Miner Res* 2001;16 (Suppl 1):495.
- Enjuanes A, Supervia A, Nogues X, Diez-Perez A. Leptin receptor (OB-R) gene expression in human primary osteoblasts: confirmation. *J Bone Miner Res* 2002;17:1135.
- Steppan CM, Crawford DT, Chidsey-Frink KL, et al. Leptin is a potent stimulator of bone growth in ob/ob mice. *Regul Pept* 2000;92:73–78.
- Kume K, Satomura K, Nishisho S, et al. Potential role of leptin in endochondral ossification. *J Histochem Cytochem* 2002;50:159–169.
- Burguera B, Hofbauer LC, Thomas T, et al. Leptin reduces ovariectomy-induced bone loss in rats. *Endocrinology* 2001;142:3546–3553.
- Holloway WR, Collier FM, Aitken CJ, et al. Leptin inhibits osteoclast generation. *J Bone Miner Res* 2002;17:200–209.
- Cornish J, Callon KE, Bava U, et al. Leptin directly regulates bone cell function in vitro and reduces bone fragility in vivo. *J Endocrinol* 2002;175:405–415.
- Gordeladze JO, Drevon CA, Syversen U, Reseland JE. Leptin stimulates human osteoblastic cell proliferation, de novo collagen synthesis, and mineralisation: impact on differentiation markers, apoptosis, and osteoclastic signaling. *J Cell Biochem* 2002;85:825–836.
- Gabay C, Dreyer M, Pellegrinelli N, et al. Leptin directly induces the secretion of interleukin 1 receptor antagonist in human monocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:783–789.
- Mathey J, Horcajada-Molteni MN, Chanteranne B, et al. Bone mass in obese diabetic Zucker rats: influence of treadmill running. *Calcified Tissue International* 2002;70:305–311.
- Thomas T, de Vittoris R, David VN, et al. Leptin prevents disuse-induced bone loss in tail-suspended female rats. *J Bone Miner Res* 2001;16:S143.
- Sawa-Wojtanowicz B, Sliwa E, Kowalik S, et al. The influence of leptin on the development of skeletal system investigated on the model of ribs during the first week of neonatal life in the pig. *Calcif Tissue Int* 2003;72:436.
- Ducy P, Amling M, Takeda S, et al. Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. *Cell* 2000;100:197–207.
- Whitfield JF. Leptin: brains and bones. *Expert Opin Investig Drugs* 2001 Sep; 10:1617–1622.
- Egrise D, Lubansu A, Schoutens A. Central perfusion of leptin decreases bone formation in the rat but does not increase the power of bone marrow extracellular fluid to inhibit osteoblast proliferation. *Calcif Tissue Int* 2003;72:350.
- Baldock PA, Sainsbury A, Couzens M, et al. Hypothalamic Y2 receptors regulate bone formation. *J Clin Invest* 2002;109:915–9.
- Takeda S, Eleftheriou F, Levasseur R, et al. Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system. *Cell* 2002;111:305–17.
- 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 stages. *J Endocrinol Metab* 1997;82:2849–2855.
- Stock SM, Sande EM, Bremme KA. Leptin levels vary significantly during the menstrual cycle, pregnancy, and in vitro fertilization treatment: possible relation to estradiol. *Fertil Steril* 1999;72:657–662.
- Boguszewski M, Dahleren I, Biarnason R, et al. Serum leptin in short children born small for gestational age: relationship with the growth response to growth hormone treatment. The Swedish Study Group for Growth Hormone Treatment. *Eur J Endocrinol* 1997;137:387–395.
- Christou H, Connors JM, Ziotopoulou M, et al. Cord blood leptin and insulin-like growth factor levels are independent predictors of fetal growth. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 935–938.
- Varvarigou A, Mantzoros CS, Beratis NG. Cord blood leptin concentrations in relation to intrauterine growth. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999; 50: 177–183.
- Ogueh O, Sooranna S, Nicolaides KH, Johnson MR. The relationship between leptin concentration and bone metabolism in the human fetus. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1997–1999.
- Melcer Z, Banhid F, Csomor S, et al. Influence of leptin and the TNF system on insulin resistance in pregnancy and their effect on anthropometric parameters of newborns. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2003;82:432–438.
- Yamauchi M, Sugimoto T, Yamaguchi T, et al. Plasma leptin concentrations are associated with bone mineral density and the presence of vertebral fractures in postmenopausal women. *Clin Endocrinol* 2001;55:341–347.
- Pasco JA, Henry MJ, Kotowicz JA, et al. Serum leptin levels are associated with bone mass in nonobese women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1884–1887.
- Blain H, Vuillemin A, Guillemin F, et al. Serum leptin level is a predictor of bone mineral density in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1030–1035.
- Scariano JK, Garry PJ, Montoya GD, et al. Serum leptin levels, bone mineral density and osteoblast alkaline phosphatase activity in elderly men and women. *Mech Ageing Dev* 2003;124:281–286.
- Zoico E, Zamboni M, Adami S, et al. Relationship between leptin levels and bone mineral density in the elderly. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2003;59:97–103.
- Shaarawy M, Abassi AF, Hassan H, Salem ME. Relationship between serum leptin concentrations and bone mineral density as well as biochemical markers of bone turnover in women with postmenopausal osteoporosis. *Fertil Steril* 2003;79:919–924.
- Sahin G, Polat G, Baethis S, Milcan A, et al. Body composition, bone mineral density, and circulating leptin levels in postmenopausal Turkish women. *Rheumatol Int* 2003;23:87–91.
- Ushiroyama T, Ikeda A, Hosotani T, et al. Inverse correlation between serum leptin concentration and vertebral bone density in postmenopausal women. *Gynecol Endocrinol*. 2003;17:31–6.
- Ruhl CE, Everhart JE. Relationship of serum leptin concentration with bone mineral density in the United States population. *J Bone Miner Res* 2002; 17:1896–903.