

## Pengaruh Leptin terhadap Kadar Interleukin 6 Serum Tikus yang Diberi Pakan Tinggi Lemak

*Effect of Leptin toward Interleukin-6 Value in the Serum of Rat Which was Given High Fat Diet*

Daniel Setiawan<sup>1</sup>, M. Rasjad Indra<sup>2</sup>, Soemardini<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya

<sup>2</sup> Laboratorium Faal, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya

\*Email:

### Abstrak

Pada keadaan obesitas, meningkatnya jumlah sel lemak merupakan salah satu penyebab meningkatnya sitokin proinflamasi seperti IL-6. Obesitas dapat dimulai dengan terjadinya resistensi leptin. Penurunan resistensi perifer leptin akan mengembalikan fungsi leptin dalam memecah jaringan lemak sehingga kadar IL-6 dalam serum akan turun. Dalam penelitian ini leptin eksogen diberikan untuk mengatasi resistensi perifer leptin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah pemberian leptin eksogen dalam jangka pendek dapat mengatasi resistensi perifer leptin. Penelitian eksperimental dengan *post test only control group design*. Dua puluh lima tikus jantan dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok dengan pakan normal, kelompok dengan pakan tinggi lemak, kelompok pakan tinggi lemak dan pemberian leptin dosis 50 ng/ml; 100 ng/ml; dan 200 ng/ml. Tiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Setelah diberi pakan tinggi lemak enam puluh hari, tikus diberi injeksi leptin intravena sekali sehari selama 3 hari. Pada hari ke 3 setelah pemberian leptin, tikus dibedah dan diambil darahnya dari aorta. Darah disentrifus, untuk memisahkan serum dengan hematokrit, kemudian diukur kadar IL-6 dalam serum. Tikus yang diberi pakan tinggi lemak kadar IL-6 dalam serum lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang diberi pakan normal. Tikus yang diberi pakan tinggi lemak dan pemberian leptin mempunyai kadar IL-6 dalam serum yang lebih rendah. Disimpulkan bahwa pemberian leptin eksogen dapat mengatasi resistensi leptin sehingga kadar IL-6 dalam serum menurun.

Kata kunci: pakan tinggi lemak, leptin, Interleukin 6

### Abstract

*In obesity, the increasing amount of fat cells is one among many factors that causes raise in proinflammatory cytokine such as IL-6. Obesity may begin with leptin resistance. Decline in leptin peripheral resistance will return leptin function in breaking down fat tissues hence the serum concentration of IL-6 will decrease. In this study, exogenous leptin was given to overcome leptin peripheral resistance. This study aims to investigate whether short course of exogenous leptin administration can overcome leptin peripheral resistance. Experimental research with posttest only control group design. Twenty five male mice were divided into 5 groups which are: group with normal diet, high fat diet, high fat diet with 50 ng/ml leptin administration, high fat diet with 100 ng/ml leptin administration, high fat diet with 200 ng/ml leptin administration. Every group consists of 5 mice. After given high fat diet for 60 days, mice were given intravenous leptin injection once daily for 3 days. On the 3<sup>rd</sup> day after leptin administration, mice were resected and blood was taken from the aorta. The blood was centrifuged to separate the serum from the hematocrit, and then concentration of IL-6 was measured from the serum. Mice given high fat diet had higher serum IL-6 concentration compared with control group. Mice with high fat diet with leptin administration had lower serum IL-6 concentration. It can be concluded that exogenous leptin can overcome leptin resistance, thus serum IL-6 concentration decreases.*

Key words: high fat diet, leptin, Interleukin 6

## PENDAHULUAN

Obesitas dianggap sebagai sinyal pertama dari munculnya kelompok penyakit non infeksi (*Non Communicable Diseases*) yang sekarang ini banyak terjadi di negara maju maupun negara berkembang. Fenomena ini sering diberi nama “*New World Syndrome*” atau Sindroma Dunia Baru dan ini telah menimbulkan beban sosial-ekonomi serta kesehatan masyarakat yang sangat besar di negara-negara berkembang termasuk Indonesia.<sup>1</sup>

Strategi yang dapat digunakan dalam terapi obesitas adalah pembatasan *intake* kalori untuk menurunkan berat badan. Akan tetapi hal ini tidak dapat bertahan lama karena munculnya rasa lapar dan menurunnya metabolisme dalam tubuh sehingga berat badan akan naik. Pemberian leptin pada orang yang berusaha menurunkan berat badan dapat mengurangi rasa lapar akibatnya kenaikan berat badan dapat dicegah.<sup>2</sup>

Leptin adalah suatu polipeptida 16 kD yang disekresi oleh jaringan lemak dan dilepaskan dalam sirkulasi.<sup>3</sup> Leptin berfungsi untuk mengatur cadangan lemak dalam tubuh dan sebagai pengatur keseimbangan energi. Pemberian leptin pada hewan menyebabkan penurunan nafsu makan, penurunan berat badan dan peningkatan metabolisme energi.<sup>4</sup>

Kadar leptin berhubungan dengan jaringan lemak. Kadar leptin akan menurun pada saat puasa dan akan meningkat setelah makan. Kadar leptin mempengaruhi fungsi patofisiologis termasuk sistem imun, obesitas dan diabetes.<sup>5</sup> Pada makrofag/monosit, leptin meningkatkan fungsi fagosit melalui aktivasi fosfolipase juga melalui sekresi IL-6 dan sitokin proinflamasi lainnya.<sup>6</sup> Efek biologi IL-6 mengurangi aktivitas LPL pada jaringan lemak dan efeknya adalah penurunan lemak yang terjadi pada

orang *cachexia* karena kanker dan penyakit lain.<sup>7</sup> IL-6 juga merupakan mediator yang penting untuk beberapa penyakit infeksi dan penyakit autoimun. Penyakit yang dipengaruhi oleh IL-6 adalah penyakit peradangan sendi, penyakit *Castleman* dan keganasan.<sup>8</sup> Leptin dapat mengurangi lemak tubuh yang merupakan penghasil IL-6 pada percobaan *in vivo*.<sup>9</sup> dimana sepertiga dari konsentrasi IL-6 pada sirkulasi diperkirakan berasal dari jaringan lemak.<sup>7</sup>

Berdasarkan keterangan di atas maka perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian leptin eksogen secara singkat terhadap kadar IL-6 dalam serum tikus *Rattus norvegicus*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah pemberian leptin eksogen dalam jangka pendek dapat mengatasi resistensi perifer leptin.

## BAHAN DAN CARA

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Rancangan eksperimental yang digunakan adalah rancangan eksperimen sederhana (*post test control group design*) dimana subyek dibagi menjadi 5 kelompok (kelompok kontrol, kelompok pakan tinggi lemak (PTL), kelompok pakan tinggi lemak (PTL) + leptin dosis I, kelompok pakan tinggi lemak (PTL)+ leptin dosis II, dan kelompok pakan tinggi lemak (PTL) + leptin dosis III) secara random kemudian setelah 60 hari diberi PTL, tikus diberi leptin eksogen sesuai dosis, secara injeksi intravena setiap hari sekali selama 3 hari, kemudian diobservasi dan dibandingkan efek leptin terhadap kadar IL-6 dalam serum.

Variabel bebas pada penelitian ini adalah pemberian injeksi leptin sedangkan variabel terganturnya adalah kadar interleukin 6 dalam serum.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan April 2008.

Alat yang digunakan adalah:- alat pemeliharaan binatang coba (kandang dari kotak plastik, tutup kandang dari anyaman kawat, botol air, rak tempat menaruh kandang), alat pembuat makanan binatang coba (baskom plastik, timbangan, sarung tangan, gelas ukur), alat pengambilan sampel (seperangkat alat bedah, spuit 5 ml, seperangkat tabung reaksi, kapas), alat Pemeriksaan Serum (ELISA reader).

Bahan yang digunakan adalah: pakan normal, pakan tinggi lemak, leptin, bahan pemeriksaan ELISA: serum tikus, antibodi IL-6

Leptin yang digunakan adalah Leptin Rekombinan yang diproduksi oleh Sigma USA, dengan dosis I 50 ng/ml, dosis II 100 ng/ml, dosis III 200 ng/ml dengan 3 x injeksi intravena, pada pukul 12.00-13.00 dengan selang waktu 1 hari pada 3 hari terakhir pemberian pakan tinggi lemak

Tikus wistar : tikus yang digunakan adalah dari galur wistar dengan jenis kelamin jantan, berumur 2 bulan dan berat badan  $\pm$  200 gr, yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Universitas Brawijaya Malang

PTL adalah pakan tinggi lemak yang dimodifikasi dengan formulasi khusus untuk menimbulkan keadaan obesitas pada hewan coba tikus yang

terdiri dari Comfeed PARS 50 %, tepung terigu 25 %, kolesterol 2,2 %, minyak babi 5 % dan air 17,8 %. Pemberian pakan ini dilakukan selama 60 hari (Ali, Mulyohadi, dkk, 2002).

Kadar IL-6 dalam serum: kadar IL-6 dalam serum adalah kadar IL-6 yang diukur dengan metode ELISA pada setiap kelompok tikus.

## HASIL

Data Peningkatan Berat Badan Tikus. Pada penelitian ini didapatkan data karakteristik tikus pada masing-masing kelompok perlakuan seperti tercantum pada Tabel 1.

Jumlah binatang coba pada akhir penelitian pada masing-masing kelompok perlakuan adalah 5 ekor.

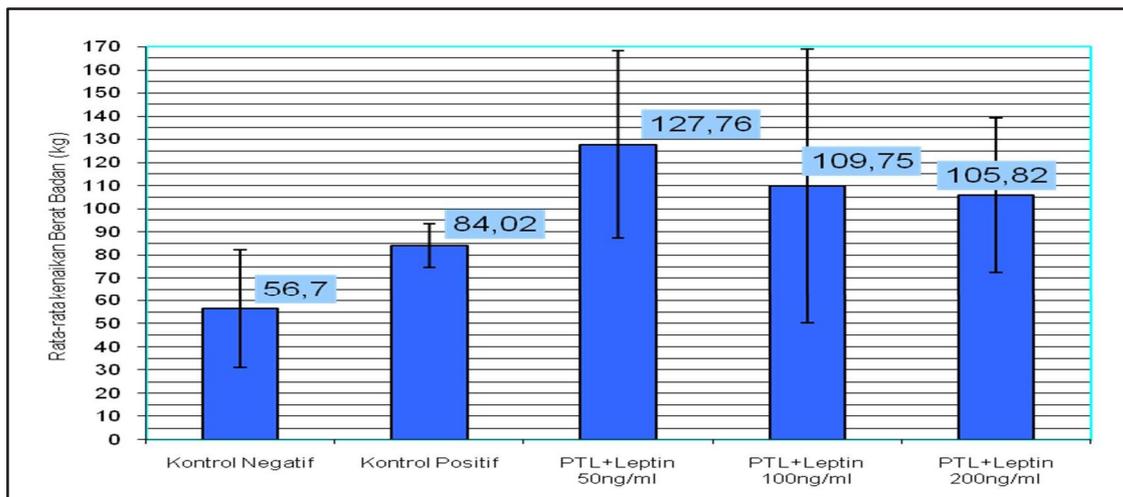
Rata-rata kenaikan berat badan tikus dapat dilihat pada Gambar 1.

Pengukuran kadar IL-6 dilakukan pada kelompok perlakuan kontrol negatif; kontrol positif; PTL + Leptin dosis 50 ng/ml, PTL + Leptin dosis 100 ng/ml; PTL + Leptin dosis 200 ng/ml dengan metode ELISA. Hasil pemeriksaan ditampilkan pada Tabel 2.

Rata-rata kadar IL-6 dalam serum pada kelompok kontrol negatif adalah 462,70 pada kelompok kontrol positif adalah 557,60, pada kelompok PTL + leptin dosis 50 ng/ml adalah 498,3, pada kelompok PTL + leptin dosis 100 ng/ml adalah 488,60, sedangkan pada kelompok PTL +leptin dosis 200

Tabel 1 : Karakteristik Berat Badan Tikus

Kelompok Perlakuan	N	Intake Kalori per Hari (kalori)	Mean $\pm$ SD		
			Berat Badan awal (gr)	Berat Badan akhir (gr)	kenaikan Berat Badan (gr)
Kontrol Negatif	5	49,89 $\pm$ 5,99	245,5 $\pm$ 48,82	302,2 $\pm$ 58,91	56,7 $\pm$ 25,62
kontrol Positif	5	53,65 $\pm$ 5,03	285,18 $\pm$ 32,14	369,2 $\pm$ 33,15	84,02 $\pm$ 9,38
PTL + Leptin 50 ng/ml	5	53,93 $\pm$ 4,66	232,24 $\pm$ 21,90	360 $\pm$ 36,08	127,76 $\pm$ 40,46
PTL + Leptin 100 ng/ml	5	54,82 $\pm$ 6,87	259,8 $\pm$ 39,54	349,2 $\pm$ 62,53	109,75 $\pm$ 59,27
PTL + Leptin 200 ng/ml	5	57,54 $\pm$ 5,31	256,18 $\pm$ 37,36	362 $\pm$ 47,26	105,82 $\pm$ 33,35



Gambar 1. Rata-rata Kenaikan Berat Badan Tikus

ng/ml adalah 350,25. Rata-rata kadar IL-6 dalam serum dapat dilihat pada Gambar 2.

Data yang didapatkan dari hasil penelitian Pengaruh injeksi leptin terhadap kadar IL-6 dalam serum tikus *Rattus norvegicus* yang diberi pakan tinggi lemak dianalisis dengan menggunakan program komputer *SPSS 15,0 for Windows*.

Tabel 1. menunjukkan karakteristik tikus dalam percobaan. Setelah dianalisa, peningkatan berat badan kelompok tikus yang diberi pakan normal (kontrol negatif) tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kelompok tikus yang diberi pakan tinggi lemak (kontrol positif, PTL + leptin dosis 50 ng/ml, PTL + leptin dosis 100 ng/ml, PTL + leptin dosis 200 ng/ml).

Tabel 2. menunjukkan bahwa kelompok tikus yang diberi injeksi Leptin memiliki kadar IL-6 yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif.

Untuk menguji homogenitas varian digunakan *Lavene test*. Hasil *out put* tampak bahwa data berasal dari populasi yang memiliki varian sama. Oleh karena data hasil penelitian memiliki distribusi

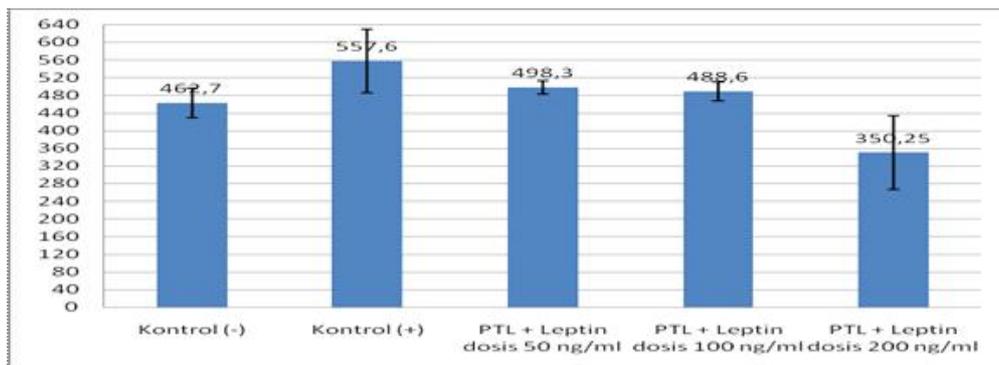
normal dan varian yang homogen, dapat dilakukan pengujian lebih lanjut.

Uji selanjutnya adalah uji *One-way ANOVA*. Uji *ANOVA (Analysis of Variance)* dilakukan untuk menguji apakah kelima sampel memiliki rata-rata yang sama. Hasil tes pada Tabel 2. didapatkan nilai rata-rata kadar IL-6 dari kelima populasi memang berbeda ( $p < 0,05$ ). Dengan demikian terdapat minimal ada dua kelompok yang berbeda signifikan.

Analisis dilanjutkan dengan *Post hoc test LSD* yang bertujuan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari hasil tes *ANOVA*. Pada analisis ini digunakan *Tukey HSD test*. Hasil analisa IL-6 serum dapat diketahui rata-rata kadar IL-6 serum tertinggi terdapat pada kelompok kontrol positif, dan terendah pada kelompok PTL+Leptin 200 ng/ml. Kadar IL-6 rata-rata

Tabel 2. Kadar IL-6 serum (ng/ml)

Kelompok Perlakuan	Kadar IL-6 (Mean ± SD)
Kontrol (-)	462,70 ± 33,16
Kontrol (+)	557,60 ± 71,57
PTL + Leptin dosis 50 ng/ml	498,3 ± 15,26
PTL + Leptin dosis 100 ng/ml	488,6 ± 22,02
PTL + Leptin dosis 200 ng/ml	350,25 ± 83,13



Gambar 2. Kadar IL-6 dalam Serum

kelompok kontrol negatif lebih rendah signifikan dengan ( $p < 0,05$ ) daripada kelompok kontrol positif, sehingga dapat disimpulkan terdapat kenaikan kadar IL-6 dengan pemberian PTL. Pemberian injeksi Leptin dosis 50 ng/ml, menyebabkan kadar rata-rata IL-6 serum lebih rendah tidak signifikan ( $p > 0,05$ ) daripada kelompok Kontrol Positif yang hanya diberikan PTL saja, sedangkan pada kelompok PTL + Leptin dosis 100 ng/ml, terjadi penurunan kadar rata-rata IL-6 serum yang tidak signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Akan tetapi, pada kelompok PTL + leptin dosis 200 ng/ml terjadi penurunan kadar rata-rata IL-6 serum yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol positif ( $p < 0,05$ ). Sementara itu, kelompok pemberian PTL + Leptin dosis 100 ng/ml, kadar rata-rata IL-6 serum lebih rendah tidak signifikan dibandingkan dengan kelompok pemberian PTL + leptin dosis 50 ng/ml. Kelompok pemberian PTL + leptin dosis 200 ng/ml tidak berbeda signifikan dengan kelompok pemberian PTL + leptin dosis 50 ng/ml. Kelompok pemberian PTL + leptin dosis 200 ng/ml berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok dengan pemberian injeksi leptin dosis 50 ng/ml dan 100 ng/ml.

Untuk melengkapi hasil uji *Tukey* digunakan *Homogeneous Subset* yang digunakan untuk mencari grup/ subset mana saja yang memiliki perbedaan rata-rata (*Mean Difference*) yang tidak berbeda secara signifikan. Kelompok pemberian injeksi leptin dosis 200 ng/ml mempunyai perbedaan kadar IL-6 yang signifikan dengan kelompok perlakuan yang lain. Kelompok kontrol negatif, kelompok pemberian PTL + leptin dosis 50 ng/ml, dan kelompok pemberian injeksi leptin dosis 100 ng/ml, tidak punya perbedaan yang signifikan satu dengan yang lain, sedangkan kelompok kontrol positif, kelompok pemberian PTL + leptin 50 ng/ml, dan kelompok pemberian PTL + leptin 100 ng/ml tidak mempunyai perbedaan kadar IL-6 yang signifikan.

## DISKUSI

Penelitian mengenai efek injeksi Leptin terhadap kadar IL-6 di dalam serum tikus *Rattus norvegicus* strain Wistar merupakan penelitian eksperimental. Penelitian ini mengarah pada keadaan obesitas yang disebabkan oleh pemberian pakan tinggi lemak dengan mekanisme resistensi leptin, dimana nilai ambang (*threshold*) reseptor leptin meningkat terhadap kadar leptin dalam serum.<sup>10</sup>

Pada penelitian ini, dibandingkan kadar IL-6 tikus yang diberi pakan normal, pakan tinggi lemak, serta pakan tinggi lemak dengan pemberian leptin. Hasil penelitian tampak bahwa kenaikan berat badan tikus yang diberi pakan tinggi lemak cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan tikus yang diberi pakan normal. Tampak juga bahwa kenaikan berat badan tikus yang diberi pakan tinggi lemak dan leptin lebih tinggi dibandingkan dengan tikus yang hanya diberi pakan tinggi lemak. Hal ini disebabkan nafsu makan tikus yang diberi leptin dan pakan tinggi lemak lebih tinggi dibandingkan tikus yang hanya diberi pakan tinggi lemak. Ditambah lagi leptin hanya diberikan selama 3 hari setelah tikus mendapat pakan tinggi lemak selama 60 hari sehingga efek leptin dalam menurunkan berat badan masih belum terlihat.

Kadar IL-6 pada tikus yang diberi pakan tinggi lemak lebih tinggi signifikan dibandingkan dengan tikus dengan pakan normal. Hal ini disebabkan pada kelompok kontrol positif terjadi peningkatan jumlah sel lemak, sedangkan sel lemak merupakan salah satu penghasil IL-6. Sepertiga dari jumlah IL-6 yang ada dalam sirkulasi berasal dari sel lemak.<sup>7</sup> Mengenai monosit darah, obesitas tidak mempengaruhi fungsi monosit dalam produksi sitokin proinflamasi.<sup>11</sup>

Peningkatan produksi IL-6 mungkin berkaitan dengan *Toll like Receptor 4* (TLR4). TLR4 diekspresikan di berbagai macam sel seperti makrofag, sel lemak, hati, dan otot bergaris. Mekanisme TLR4 adalah sebagai berikut Ikatan LPS dengan TLR4 menyebabkan *adaptor protein myeloid differentiation factor 88* (MyD88) mengaktivasi gen yang berhubungan dengan NF- $\kappa$ B yang mengkode

sitokin proinflamasi, seperti TNF- $\alpha$  dan IL-6.<sup>12</sup> Peningkatan kadar IL-6 ini bukan disebabkan oleh proses infeksi karena tikus yang digunakan adalah tikus yang sehat.

Kadar IL-6 pada tikus yang diberi PTL dan injeksi leptin (50 ng/ml dan 100 ng/ml) lebih rendah tidak signifikan bila dibandingkan dengan kadar IL-6 pada tikus yang diberi PTL saja. Meskipun tidak signifikan namun penurunan kadar IL-6 terjadi seiring dengan besar dosis leptin yang diberikan. Hal ini disebabkan pemberian leptin dapat mengatasi resistensi leptin sehingga jumlah sel lemak berkurang dan produksi IL-6 juga ikut berkurang. Mekanisme leptin dalam mengurangi jumlah sel lemak dapat melalui penurunan *uptake* glukosa, menghambat sintesis asam lemak, menginduksi sintesis enzim lipolitik, dan meningkatkan oksidasi lemak, stimulasi apoptosis sel lemak.<sup>13</sup> Selain itu, leptin juga dapat meningkatkan lipolisis pada sel lemak secara langsung. Hal ini didukung oleh beberapa fakta, yaitu pertama ekspresi dari reseptor leptin ditemukan pada jaringan lemak dan kedua, pada penelitian *in vitro*, leptin dapat menghambat enzim lipogenik pada sel lemak muda dan meningkatkan pelepasan gliserol dari sel lemak dewasa.<sup>14</sup>

Tikus yang diberi pakan tinggi lemak dan injeksi leptin dosis 200 ng/ml memiliki kadar IL-6 yang terendah dibandingkan dengan semua kelompok, bahkan perbedaannya signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa dosis 200 ng/ml dapat mengatasi resistensi leptin yang terjadi secara efektif sehingga leptin dapat berfungsi normal. Akibatnya jumlah sel lemak dalam tubuh berkurang sehingga produksi IL-6 juga berkurang dan kadar IL-6 dalam serum menurun.

Menurut Matarese et al. (2005)<sup>6</sup> disebutkan bahwa leptin dapat meningkatkan sekresi sitokin proinflamasi melalui aktivasi makrofag. Pada penelitian lain juga disebutkan bahwa pemberian leptin pada subyek dengan defisiensi leptin dapat meningkatkan sitokin proinflamasi sedangkan pada subyek dengan kadar leptin normal atau berlebih tidak mempengaruhi kadar sitokin proinflamasi.

Dalam penelitian ini terbukti bahwa pemberian leptin pada tikus yang diberi pakan tinggi lemak tidak meningkatkan tetapi malah menurunkan kadar IL-6. Maka peneliti mengambil kesimpulan bahwa leptin dapat menurunkan kadar sitokin proinflamasi pada obesitas melalui peningkatan aktivitas lipolitik.

## SIMPULAN

Pemberian leptin dengan dosis 200 ng/ml dapat menurunkan kadar IL-6 dalam serum tikus putih yang diberi PTL (Pakan Tinggi Lemak).

## DAFTAR PUSTAKA

1. Hadi, Hamam. *Beban Ganda Masalah Gizi dan Implikasinya terhadap Kebijakan Pembangunan Kesehatan Nasional*. 2005. <http://www.gizi.net/>
2. Ahima, RS. Revisiting Leptin's Role in Obesity and Weight Loss. *J Clin Invest*, 2008; 118(7):2380-3.
3. Wijaya, A. 1997. Leptin, TNF- $\alpha$  dan reseptor adrenergik  $\beta$ 3. *Prodia Diagnostics Educational Services*. 2: 4-5.
4. Houseknecht, KL., Baile, CA., Matteri, RL., and Spurlock, ME. The Biology of Leptin: A Review. *J Anim Sci*, 1998; 76 (5): 1405-20.
5. Tang, CH, Lu, DY, Yang, RS, Tsai, HY, Kao, MC, Fu, WM. and Chen, YF. Leptin-Induced IL-6 Production Is Mediated by Leptin Receptor, Insulin Receptor Substrate-1, Phosphatidylinositol 3-Kinase, Akt, NF- $\kappa$ B, and p300 Pathway in Microglia. *J Immunol*, 2007; 179 (2): 1292-302.
6. Matarese, G., Mochos, S. dan Mantzoros, CS. *Leptin In Immunology*. *J Immunol*, 2005; 174 (6): 3137-42.
7. Fruhbeck, G., Gomez, AJ., Muruzabal, FJ., and Burrell, MA. The Adipocyte: a Model for Integration of Endocrine and Metabolic Signaling in Energy Metabolism Regulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2001; 280 (6): E827-47.
8. Keller, ET., Waganat, J., Ershler, W.B. Molecular and Cellular Biology of Interleukin-6 and Its Receptor. *Front Biosci*, 1996; 1: d340-57.
9. Fantuzzi, G. and Faggioni R. Leptin in the Regulation of Immunity, Inflammation and Hematopoiesis. *J Leukoc Biol*, 2000; 68 (4): 437-46.
10. Liu. M. *The Science Creative Quarterly, Leptin: a piece of obesity pie*. issue three. 2004. <http://www.scq.ubc.ca/?p=421>.
11. Sammy B, Elena V, Steve B, Jessica EJ, Gary PA and Margaret JM. Unaltered TNF- $\alpha$  Production by Macrophages and Monocytes in Diet-Induced Obesity in the Rat. *J Inflamm (Lond)*, 2005; 2: 2.
12. Kim, JK. Fat Uses a TOLL-Road to Connect Inflammation and Diabetes. *Cell Metab*, 2006; 4 (6): 417-9.

13. Gullicksen, P.S, Della-Fera, M.A. dan Baile, C.A. Leptin-Induced Adipose Apoptosis: Implications for Body Weight Regulation. *Apoptosis*. 2003; 8 (4): 327-35.
14. Wang, MY., Lee, Y. dan Unger, RH. Novel Form of Lipolysis Induced by Leptin. *J Biol Chem*, 1999; 274 (25): 17541-4.