

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

**CAROLLINA FRAGA DA RÉ**

**A LEPTINA E SEU PAPEL NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL**

Porto Alegre, 2012

**CAROLLINA FRAGA DA RÉ**

**A LEPTINA E SEU PAPEL NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Nutrição, à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Curso de Nutrição.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Marina Concli Leite

Co-orientadora: Maria Cristina Barea Guerra

Porto Alegre, 2012

**CAROLLINA FRAGA DA RÉ**

**A LEPTINA E SEU PAPEL NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Nutrição, à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Curso de Nutrição.

**Porto Alegre, de dezembro de 2012**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova o Trabalho de Conclusão de Curso “A LEPTINA E SEU PAPEL NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL” elaborado por Carolína Fraga Da Ré, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição.

Comissão examinadora:

---

Profª Drª Martine Kienzle

---

Profª Mª Fernanda Hansen

---

Profª Drª Marina Concli Leite – Orientadora

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a minha avó Magali (in memoriam), base da minha educação e exemplo de vida para mim e para todos que tiveram o privilégio de conhecê-la.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, Ary e Márcia, pelo apoio e confiança em mim depositados, sem vocês nada disso seria possível, vocês são tudo pra mim.

Às minhas irmãs Gabriella e Alessandra pela paciência e apoio nos momentos difíceis. E ao meu sobrinho Bernardo pela alegria de todos os dias.

À toda a minha família, cada um teve um papel importante para que eu pudesse chegar até aqui.

Ao meu namorado Clenilson pela compreensão nos momentos de tensão e cansaço, e pelo apoio neste último ano de graduação.

À minha orientadora Marina pelo conhecimento passado e pela orientação não só do TCC, como também, de todos esses anos de Iniciação Científica. E à minha co-orientadora Maria Cristina, pela dedicação em me auxiliar durante todos os anos de laboratório. Vocês são um exemplo pra mim.

Ao meu orientador de Iniciação Científica Carlos Alberto pela confiança depositada em mim durante esses anos.

A todo o laboratório 31/33 do Departamento de Bioquímica desta universidade pelos anos de auxílio em minha formação.

À UFRGS pelo ensino de excelência e apoio a pesquisa, e a todos os professores do curso de Nutrição pelos ensinamentos transmitidos.

Ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre pela oportunidade de vivência prática na nutrição, e aos profissionais que me auxiliaram durante o estágio nesta instituição, em especial às nutricionistas Ângela, Janaína, Lívia e Suzana.

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para minha formação.

## RESUMO

A leptina é um hormônio peptídico codificado pelo gene *ob* e foi caracterizada primeiramente pela sua função na regulação da homeostase energética. O principal local de produção de leptina é o tecido adiposo, porém há evidências de sua produção em outros tecidos. Os níveis circulantes desse hormônio são proporcionais à quantidade de massa gorda e podem variar em resposta a muitos fatores, como o ciclo alimentação / jejum, entre outros. A leptina age via receptores transmembrana os quais podem ter seis isoformas diferentes. A sinalização da leptina se dá principalmente por sua ligação ao receptor de isoforma longa, o LRB, agindo através de diferentes vias de sinalização. O principal papel da leptina no Sistema Nervoso Central é na regulação da homeostase energética, onde age sobre os agentes anorexígenos e orexígenos para gerar um sinal de saciedade. Este hormônio pode ter papel importante também na regulação da homeostase da glicose, excitabilidade neuronal, aprendizagem e memória e pode ser neuroprotetor em diversas situações entre elas a Doença de Alzheimer. Em contrapartida, níveis elevados deste hormônio, como na obesidade, podem levar a resistência central a leptina. Pode-se concluir com o presente trabalho que a leptina pode ter diversas funções no Sistema Nervoso Central além do modelo homeostático inicialmente proposto. Além disso, esse hormônio pode ser uma alternativa futura na terapêutica de doenças em nível de Sistema Nervoso Central.

**Palavras-chave:** leptina, Sistema Nervoso Central, Doença de Alzheimer, obesidade.

## **ABSTRACT**

Leptin is a peptide hormone encoded by the ob gene and is characterized primarily by its function in the regulation of energy homeostasis. The main site of leptin production is adipose tissue, but there are evidences of its production in other tissues. Circulating levels of this hormone are proportional to the amount of fat mass and may vary in response to many factors, such as the cycle feeding / fasting, among others. Leptin acts via transmembrane receptors which can have six different isoforms. The leptin signaling is primarily by its binding to the long receptor isoform, LRb, acting through different signaling pathways. The main role of leptin in the central nervous system is the regulation of energy homeostasis, which acts on the orexigenic and anorexigenic agents to generate a satiety signal. This hormone may also play a role in the regulation of glucose homeostasis, neuronal excitability, learning and memory and may be neuroprotective in a variety of situations including Alzheimer's Disease. In contrast, high levels of this hormone, as in obesity, may lead to central leptin resistance. In conclusion, leptin may have several functions in the central nervous system beyond the homeostatic model initially proposed; moreover, this hormone may be a future alternative therapy of diseases of the central nervous system.

**Keywords:** leptin, central nervous system, Alzheimer's disease, obesity.

## **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 – Sinalização da leptina

Figura 2 – Controle alimentar



## LISTA DE ABREVIATURAS

AgRP – Proteína relacionada ao Agouti  
AMP – Adenosina mono-fosfato  
AMPK – Cinase dependente de AMP  
ATP – Tri-fosfato de Adenosina  
BDNF – Fator neurotrófico derivado do cérebro  
BHE – Barreira hematoencefálica  
BK – Canais de potássio ativados por cálcio  
DA – Doença de Alzheimer  
ERK – Sinal extracelular regulado por cinase  
GALP – Peptídeo ligante de galanina  
ICV – intracerebroventricular  
IMC – Índice de massa corporal  
JAK – Janus Cinase  
KATP – Canais de potássio sensíveis a ATP  
LR – Receptor de leptina  
LTP – Potenciação de longa duração  
MAPK – Proteína cinase ativada por mitógeno  
NMDA –N-metil-D-aspartato  
NPY – Neuropeptídeo Y  
PI3K – Fosfatidinositol cinase 3  
POMC – proopiomelanocortina  
PrRP – Peptídeo de liberação de prolactina  
RNA – Ácido ribonucleico  
SHP - 2 – Tirosina fosfatase 2  
SOCS 3 – Supressor inibitório de sinalização de citocinas 3  
 $\beta$ A -  $\beta$ -amiloide  
STAT - Transdutor de sinal e ativador de transcrição  
STP – Potenciação de curta duração  
Tyr1077 – tirosina na posição 1077  
Tyr1138 – tirosina na posição 1138  
Tyr985 – tirosina na posição 985

$\alpha$ -MSH –  $\alpha$ -melanocortina

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2. JUSTIFICATIVA</b> .....	13
<b>3. OBJETIVO</b> .....	14
<b>4. METODOLOGIA</b> .....	15
<b>5. LEPTINA</b> .....	16
5.1. DESCOBRIMENTO .....	16
5.2. LOCAIS DE PRODUÇÃO.....	17
5.3. FATORES QUE AFETAM OS NÍVEIS DE LEPTINA.....	19
5.4. SINALIZAÇÃO.....	21
5.4.1. RECEPTORES .....	21
5.4.2. VIAS DE SINALIZAÇÃO.....	23
<b>6. LEPTINA NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL</b> .....	25
6.1. CONTROLE ALIMENTAR.....	25
6.1.1. O PAPEL DA LEPTINA NO CONTROLE ALIMENTAR.....	27
6.2. CONTROLE DA HOMEOSTASE DA GLICOSE.....	29
6.3. EXCITABILIDADE NEURONAL.....	30
6.4. APRENDIZAGEM E MEMÓRIA .....	31
6.5. NEUROPROTEÇÃO.....	33
6.6. LEPTINA E DOENÇA DE ALZHEIMER .....	33
<b>7. OBESIDADE E RESISTÊNCIA À LEPTINA</b> .....	35
<b>8. CONCLUSÃO</b> .....	37
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	38

## 1. INTRODUÇÃO

A leptina é um hormônio peptídico de 16 kDa com uma estrutura terciária semelhante a dos membros da família de citocinas de cadeia longa (ZHANG *et al*, 1994). Esse hormônio é produzido e secretado na proporção da quantidade de gordura corporal principalmente pelo tecido adiposo, porém existem evidências de sua produção em outros tecidos como na placenta, ovários, estômago e músculo esquelético (MASUZAKI *et al*, 1997; BADO *et al*, 1998; WANG *et al*, 1998).

A leptina age via receptores transmembrana, os quais são sintetizados a partir do gene *db* (TARTAGLIA *et al*, 1995), que tem splices alternativos para a produção de seis isoformas diferentes, a isoforma longa (LRb) é a responsável pela sinalização da leptina intracelularmente (BANKS *et al*, 2000). Esse hormônio após a sua ligação ao receptor pode agir através de diferentes vias de sinalização (FRUHBECK, 2006).

Diversos fatores podem alterar os níveis circulantes de leptina além do ciclo alimentação / jejum, podendo-se citar o índice de massa corporal (IMC), o exercício físico, a exposição ao frio e o consumo de álcool (MARGETIC *et al*, 2002). Primeiramente, a leptina foi proposta apenas como um regulador da homeostase energética, porém existem estudos demonstrando outras ações desse hormônio em diversos tecidos centrais e periféricos (MARGETIC *et al*, 2002), como na regulação da homeostase da glicose, excitabilidade neuronal, aprendizagem e memória (MORTON & SCHWARTZ, 2011; AYYILDIZ *et al*, 2006; O'MALLEY *et al*, 2007).

A leptina se mostrou neuroprotetora em modelos animais com isquemia cerebral (TANG, 2008), Doença de Parkinson (WENG *et al*, 2007), epilepsia (XU *et al*, 2008) e Doença de Alzheimer (DA). Seu papel neuroprotetor na DA se deve à diminuição da secreção de  $\beta$ -amiloide e da fosforilação da proteína tau (GRECO *et al*, 2008). Em obesos, os níveis de leptina estão elevados, sendo a resposta anorexígena a este hormônio ineficaz, possivelmente devido a uma resistência central à leptina desenvolvida nesses indivíduos (LEVIN *et al*, 2004).

## **2. JUSTIFICATIVA**

Tendo em vista o papel da leptina em diversas patologias em nível de Sistema Nervoso Central, se torna necessário a revisão dos estudos a respeito deste tema.

### **3. OBJETIVO**

Este estudo visa revisar as evidências a respeito das características gerais da leptina, seu papel no Sistema Nervoso Central e quais mecanismos podem levar à resistência central a este hormônio durante a obesidade.

#### 4. METODOLOGIA

O trabalho trata-se de uma revisão não sistemática, na qual foi realizada pesquisa bibliográfica conforme Chiara & Chiara (2006) através da análise de artigos indexados na base de dados PubMed. Foram utilizados os indexadores “leptin” juntamente com “central nervous system” ou “obesity” ou “Alzheimer’s disease”. Devido a diversidade de artigos encontrados neste modelo de busca os artigos foram selecionados manualmente de acordo com o conteúdo proposto para o presente estudo.

Foram utilizados estudos clássicos sobre o assunto, além destes, os artigos selecionados pertenciam a um intervalo de tempo de 1992 até 2012. Sendo estes com delineamento do tipo revisão bibliográfica, experimentais em humanos, animais ou *in vitro*. O idioma de base utilizado foi o inglês.

## 1. LEPTINA

### 4.1. DESCOBRIMENTO

Até a década de 50 não havia muitas especulações a respeito da regulação da homeostase energética, então, Kennedy (1953) propôs que a quantidade de energia estocada no tecido adiposo representava o balanço entre a ingestão calórica e o consumo energético. Uma vez que a massa adiposa tende a ser relativamente estável durante longos períodos na maioria dos mamíferos, ele previa que existissem mecanismos que monitorassem mudanças nos estoques energéticos e provocassem mudanças compensatórias na ingestão alimentar e no gasto energético para manter a massa adiposa em um nível ajustado.

Em 1949, foi identificada e caracterizada uma colônia de ratos que exibiam intensa obesidade, designados de ratos ob / ob. Estes ratos apresentavam uma mutação autossômica recessiva no cromossomo 6, provocando hiperfagia e obesidade precoce (INGALLS, 1950). Alguns anos depois, em 1966, outra linhagem de ratos com obesidade grave foi identificada, do mesmo modo, estes apresentavam uma mutação homozigótica no gene diabetes (db), que se caracterizava fenotipicamente com início precoce de obesidade, hiperfagia e resistência à insulina, estes ratos foram chamados de ratos db / db (HUMMEL *et al*, 1966).

Sete anos após a descoberta desses genes, Coleman (1973) realizou diferentes tipos de experimentos com parabiose, que consistia em um método cirúrgico no qual se une a circulação de dois organismos distintos, como se fossem gêmeos siameses. Nesse estudo foram realizadas parabioses em ratos ob / ob, db / db e do tipo selvagem. Em um primeiro momento, ratos db / db foram unidos a ratos selvagens, resultando em ratos db / db com seu mesmo fenótipo obeso enquanto que os ratos selvagens apresentaram diminuição na ingestão alimentar e no peso corporal, chegando a entrar em estado de caquexia, demonstrando que os ratos db / db apresentavam um sinal circulante potente para inibir a ingestão alimentar em animais normais.

Após, foram unidos ratos ob / ob com os ratos selvagens, e observou-se que os ratos do tipo selvagem não tiveram nenhuma alteração, enquanto os ratos ob / ob tiveram uma diminuição na ingestão alimentar e melhora do controle glicêmico. Em contraste, a junção de



ratos ob / ob com ratos db / db resultou numa redução da ingestão alimentar e do peso dos ratos ob / ob, associada com hipoglicemia e até mesmo a morte. Ao mesmo tempo, que causou ganho de peso sem apresentação de nenhuma melhoria no fenótipo metabólico dos ratos db / db (COLEMAN, 1973).

Com estes experimentos, Coleman concluiu que o rato db /db produz um fator de saciedade, porém não há uma resposta. Assim como, o rato ob / ob apresenta falta deste fator transmitido pelo sangue, que garantiria um adequado controle do apetite e do peso corporal. Assim, diversos estudos durante décadas sugeriram que o peso corporal seria regulado por um responsável endócrino, no qual o gene ob codifica o hormônio chave desta via e que este hormônio tem como alvo um receptor específico codificado pelo gene db, expresso em estruturas do hipotálamo envolvidas na regulação da ingestão alimentar (FEVE & BASTARD, 2012).

Apesar de muitos resultados claros sobre a existência de um fator endócrino que regulasse o consumo alimentar, ainda havia um grande ceticismo acerca disso, reforçado pelo fracasso dos cientistas na tentativa de identificar este fator circulante de saciedade. Esta dificuldade tornou-se evidente uma vez que a proteína em questão estava presente em quantidades muito pequenas para ser identificada através de bioensaios convencionais. Além disso, devido sua ação de longa duração biológica sobre a homeostase energética, exige longos períodos para se detectar um efeito significativo sobre o peso corporal.

Em 1994, Zhang e colaboradores conseguiram, após oito anos de trabalho intenso, identificar o gene ob em humanos e roedores. Demonstraram ainda que o produto do gene ob era um transcrito de 4,5 kb especificamente expresso no tecido adiposo, e codificava um peptídeo a ser secretado de 167 aminoácidos. Este hormônio peptídico foi chamado de leptina (do grego *leptos*, que significa magro), por causar redução acentuada na ingestão alimentar, peso e gordura corporal quando injetada em camundongos deficientes de leptina ou normais.

#### 4.2. LOCAIS DE PRODUÇÃO

O principal local de produção da leptina é no tecido adiposo, sendo sua produção mais expressiva e de maior importância no tecido adiposo branco em relação ao tecido adiposo

marrom. Porém diversas evidências demonstraram sua produção em outros tecidos, como na placenta, ovários, estômago e músculo esquelético (MASUZAKI *et al*, 1997; BADO *et al*, 1998; WANG *et al*, 1998).

A expressão do gene *ob*, que codifica a leptina, pode variar de acordo com o local de depósito do tecido adiposo branco, como por exemplo, em humanos sua expressão parece ser maior no tecido adiposo subcutâneo do que no visceral (HUBE *et al*, 1996; MONTAGUE *et al*, 1997; VAN HARMELEN *et al*, 1998). Essa diferença nos níveis de RNA mensageiro pode refletir também no tamanho das células de gordura, onde quanto maior o tamanho dos adipócitos, maior é a expressão do gene *ob* (MAFFEI *et al*, 1995; CONSIDINE *et al*, 1996).

Em contrapartida, Lonqvist *et al* (1995), não encontraram diferença na expressão de leptina entre a gordura subcutânea e visceral em um pequeno grupo de humanos obesos. Em roedores, a expressão da leptina pode ser mais baixa no tecido adiposo subcutâneo do que nos depósitos de gordura mais internos, e os níveis mais altos são encontrados na gordura epididimal e perirenal (MAFFEI *et al*, 1995; HUBE *et al*, 1996).

O gene para produção da leptina também pode ser encontrado na placenta e ovários, tanto em roedores quanto em humanos (SPICER *et al*, 1997; MASUZAKI *et al*, 1997). Para essa expressão demonstram-se duas hipóteses, a de que este hormônio possa agir como um fator de crescimento ou como um sinal energético entre a mãe e o feto. Há também expressão do gene do receptor da leptina na placenta (HOGGARD *et al*, 1997), sugerindo uma ação autócrina deste hormônio. A expressão da leptina pelos sinciciotroblastos (HOGGARD *et al*, 1997; SENARIS *et al*, 1997) adiciona suporte à hipótese da importância da leptina no transporte de nutrientes entre mãe e feto.

Alguns estudos demonstram a produção deste hormônio também em outros tecidos, podendo-se citar, células epiteliais mamárias humanas (SMITH-KIRWIN *et al*, 1998), medula óssea de humanos e de ratos recém nascidos (LAHARRAGUE *et al*, 1998; CHEN *et al*, 1999), estômago (BADO *et al*, 1998), músculo esquelético (WANG *et al*, 1998), glândula pituitária (MORASH *et al*, 1999; JIN *et al*, 2000), e fígado de roedores (SOUKAS *et al*, 1999).

A diversidade de locais onde pode ser produzido esse hormônio demonstra que as funções da leptina podem estender-se muito além do modelo básico inicialmente previsto.

### 4.3. FATORES QUE AFETAM OS NÍVEIS DE LEPTINA

Os níveis de leptina circulante podem ser alterados, principalmente, pela ingestão alimentar, porém, diversos estudos têm demonstrado o papel de outros fatores sobre a concentração desse hormônio no plasma. Dentre os fatores que podem interferir na secreção da leptina, além do ciclo alimentação / jejum, pode-se citar o índice de massa corporal (IMC), o exercício físico, a exposição ao frio e o consumo de álcool (MARGETIC *et al*, 2002).

Sendo a leptina um importante modulador da homeostase energética (AHIMA & FILIER, 2000), seus níveis no plasma são influenciados, principalmente, pela ingestão alimentar, onde após uma refeição ou uma superalimentação ocorre um aumento na sua secreção pelos adipócitos (KOLACZYNSKI *et al*, 1996; SALADIN *et al*, 1995). A importância desta secreção no controle alimentar será discutida posteriormente.

Ao contrário da alimentação, como esperado, o jejum induz alterações fisiológicas que resultam numa redução da expressão do gene *ob* e subsequente queda dos níveis de leptina circulante (TRAYHURN *et al*, 1995). A diminuição nos níveis da leptina em resposta a uma restrição calórica de jejum parece ser mais rápida do que a diminuição de tecido adiposo, sendo assim esta pode servir como um sensor de mudanças em curto prazo nos estoques energéticos (BODEN *et al*, 1996; BERTILE & RACLOT, 2006). Além disso, a realimentação após o jejum leva a um rápido restabelecimento dos níveis de leptina plasmática (BERTILE & RACLOT, 2006).

Os níveis de RNA mensageiro do gene *ob* no tecido adiposo branco, assim como a concentração circulante de leptina estão aumentados também na obesidade, sendo isto demonstrado tanto em humanos quanto em diversos tipos de estudos com modelos animais de obesidade (MACEDO *et al*, 2012; CONSIDINE *et al*, 1996). Em humanos pode-se encontrar uma alta correlação entre o IMC e os níveis circulantes de leptina (ARNARDOTTIRN *et al*, 2012). Portanto, quanto maior a quantidade de tecido adiposo, maior os níveis do hormônio no plasma, podendo-se presumir que os níveis de leptina geram um sinal que limita o ganho de peso adicional (BERTILE & RACLOT, 2006), assim como deve-se levar em consideração a resistência à leptina presente em indivíduos obesos (BJORBAEK *et al*, 2009).

O treinamento físico pode ser citado como outro determinante dos níveis da leptina. Porém, existem controvérsias a respeito do efeito do exercício físico sobre esses níveis. Estudos que analisaram os níveis deste hormônio após exercícios de curta duração demonstraram uma diminuição deste no sangue até cerca de duas horas após o exercício (ELIAS *et al*, 2000; FISHER *et al*, 2001). Entretanto, outros estudos não encontraram diferença significativa nos níveis de leptina após o mesmo tipo de exercício (WELTRON *et al*, 2000; SARI *et al*, 2007). Os mecanismos pelos quais o exercício físico pode regular a produção de leptina podem ser através de outros hormônios, como o cortisol, a adrenalina e a insulina. E a variabilidade entre os resultados encontrados nos estudos pode ser explicada devido às diferenças nos protocolos de exercício, assim como a diversidade genética entre os indivíduos analisados.

Outro fator importante que pode interferir nos níveis de leptina circulante é a exposição ao frio. Em situações de baixa temperatura a concentração do hormônio no plasma diminui, sendo isto mostrado *in vitro* e *in vivo* (PEINO *et al*, 2000). Em humanos a diminuição dos níveis plasmáticos de leptina foi proporcional ao tempo de exposição ao frio (RICCI *et al*, 2000). Há a hipótese de que o efeito inibitório da temperatura baixa sobre a leptina resulte de um aumento no tônus adrenérgico induzido pela exposição a temperaturas frias, o qual pode por sua vez agir através do  $\beta_3$  – adrenoreceptor presente no tecido adiposo, induzindo uma redução na expressão do RNA mensageiro de leptina (TRAYHURN *et al*, 1995b). Além disso, para animais vivendo em áreas de grande variação sazonal de temperatura, essa redução da leptina sérica pode representar um mecanismo adaptativo para maximizar o tamanho dos depósitos de gordura, quando a temperatura ambiente é baixa (MARGETIC *et al*, 2002).

O consumo de álcool também pode levar a alterações nos níveis de leptina circulante. Mayer (2010) encontrou uma associação inversa entre o consumo crônico de álcool relatado por pacientes, com níveis de leptina diminuídos na circulação. Em contraste, outro estudo encontrou uma inibição aguda na secreção de leptina e consequente diminuição deste hormônio no plasma após o consumo moderado de álcool. Como também, os níveis do hormônio se restabeleciam a seus níveis basais conforme a concentração de álcool no plasma era diminuída (RÖJDMARK *et al*, 2001). Ainda não estão bem estabelecidos os mecanismos pelos quais o álcool pode interferir nos níveis de leptina, provavelmente esta substância possa agir diretamente no tecido adiposo a fim de diminuir a secreção deste hormônio, ou

indiretamente, através de outras vias as quais regulam os níveis de leptina, como a insulina (RÖJDMARK *et al*, 2001).

#### 4.4. SINALIZAÇÃO

##### 4.4.1. RECEPTORES

A leptina age via receptores transmembrana, que pertence a classe I de receptores de citocinas (FRUHBECK 2006). Seu receptor é sintetizado a partir do gene *db* (TARTAGLIA *et al*, 1995), que tem splices alternativos para produção de seis isoformas diferentes (LRa – LRf). As isoformas LRa – LRd e LRf são idênticas em seus domínios extracelular e transmembrana diferenciando-se no intracelular. O domínio extracelular do receptor de leptina consiste de 816 aminoácidos e tem dois sítios de ligação (Trp-Ser-X-Ser-Trp) e um domínio Tipo III de fibronectina (TARTAGLIA *et al*, 1995; WHITE *et al*, 1996).

As isoformas LRa – LRd e LRf possuem um domínio transmembrana composto por 23 aminoácidos. A LRb é uma isoforma que contém um domínio intracelular de forma longa que possui aproximadamente 306 aminoácidos (sendo maior em humanos do que em roedores), enquanto as demais, LRa, LRC, LRd e LRf possuem um domínio intracelular curto, contendo estes cerca de 32 a 40 aminoácidos (TARTAGLIA *et al*, 1995). Análises de construção de receptores mutantes mostraram que a segunda ligação da leptina ao domínio medeia a ligação e a ativação do receptor e a afinidade da leptina a estes sítios de ligação é em concentrações nanomolar (FONG *et al*, 1998).

A isoforma solúvel do receptor de leptina (LRe) não tem um papel direto na sinalização, porém é igualmente importante na determinação do total de peptídeo circulante (HUANG *et al*, 2001). De fato, a proporção de leptina circulante na forma livre e ligada a proteínas pode ser um importante determinante fisiológico da ação deste hormônio (BRABANT *et al*, 2000).

Mutações no gene *db* em camundongos resultaram em um fenótipo obeso alterando o splice do receptor de isoforma longa resultando em uma forma truncada de receptor

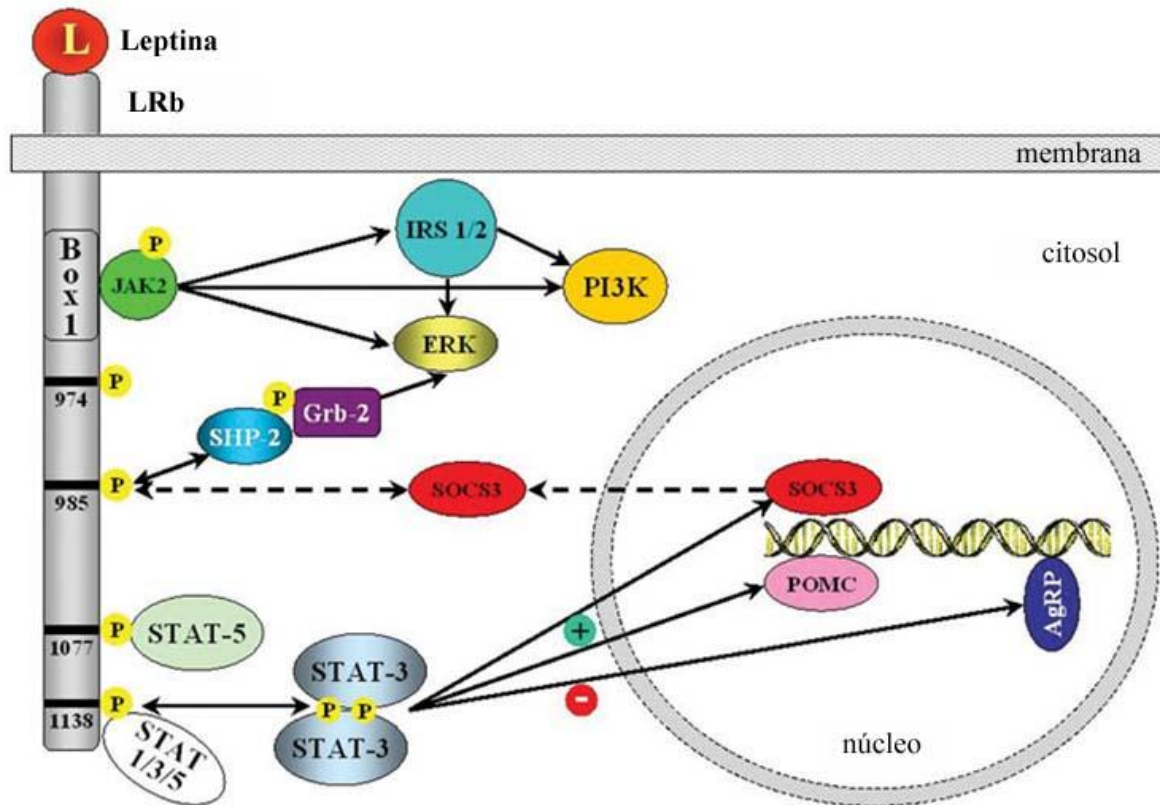
semelhante ao receptor de isoforma LRA (LEE *et al*, 1996). Este fenótipo apresentado sugere que o receptor de leptina de forma longa tem um papel importante na regulação da ingestão alimentar, gasto energético e função endócrina. De fato, o fenótipo de obesidade e diabetes em ratos db / db pode ser adquirido através da expressão transgênica específica do receptor de leptina de forma longa (KOWALSKI *et al*, 2001). Além disso, diversos outros modelos de obesidade estão associados a mutações no gene do receptor de leptina (PHILLIPS *et al*, 1996; TAKAYA *et al*, 1996).

O domínio intracelular de todas as isoformas contém uma idêntica sequência de 29 aminoácidos contendo um domínio de ligação da família Janus Cinase (JAK) na região justamembranar enquanto LRb também contém um sítio de ligação do Transdutor de Sinal e Ativador de Transcrição (STAT). O receptor de forma longa da leptina humana contém cinco tirosinas, e cada uma pode estar associada à ativação de vias de sinalização distintas (Figura 1) (BANKS *et al*, 2000; TARTAGLIA *et al*, 1997). Apesar de LRb ser tradicionalmente considerada a “isoforma sinalizadora”, há evidências claras de que os receptores de isoformas curtas são capazes de sinalizar, demonstrando diferentes capacidades de sinalização (MURAKAMI *et al*, 1997; BJORBAEK *et al*, 1998).

As isoformas LRA – LRd e LRF são capazes de formar homodímeros na ausência de ligante, e a extensão dessa associação não altera significativamente a estimulação do ligante (WHITE *et al*, 1999). Assim, a dimerização não desempenha um papel regulatório na ativação do receptor, entretanto, parece ser necessária para a sinalização (WHITE *et al*, 1997). Cada LR liga a leptina com uma estequiometria de 1:1, resultando na formação de um complexo tetramérico de receptor e ligante (DEVOS *et al*, 1997). A alteração na conformação da estrutura do receptor induzida pela formação desse complexo é considerada crítica na ativação da sinalização da leptina (FONG *et al*, 1998).

A expressão dos receptores de leptina é mais elevada no hipotálamo, todavia também é encontrado em outras estruturas do Sistema Nervoso Central e em muitos tecidos periféricos, porém em menor quantidade (KIELAR *et al*, 1998; MORTON *et al*, 1998). A isoforma LRA é expressa em grande quantidade e representa a principal isoforma de muitos tecidos periféricos, sendo a responsável pelo transporte da leptina através da barreira hematoencefálica (MORTON & SCHWARTZ 2011).

**Figura 1:** Vias de Sinalização da Leptina (adaptado de FRUHBECK, 2006)



AgRP – proteína relacionada ao Agouti; ERK – cinase regulada por sinal extracelular; Grb-2 – fator de crescimento receptor-proteína 2; IRS – substrato receptor de insulina; JAK – janus cinase; LRb – receptor de leptina de isoforma longa; PI3K – fosfatidilinositol cinase 3; POMC – proopiomelanocortina; SOCS3 – supressor de sinalização de citocina 3; SH2 – proteína fosfatase 2; STAT – transdutor de sinal e ativador de transcrição.

#### 4.4.2. VIAS DE SINALIZAÇÃO

Como já descrito anteriormente, a isoforma LRb, ou a isoforma longa do receptor de leptina, medeia a sinalização intracelular e é crucial na ação da leptina. O LRb inicia os sinais pela ativação da JAK2, a qual se autofosforila, bem como são fosforilados resíduos de tirosina no LRb (KLOEK *et al*, 2002; WHITE *et al*, 1997; BANKS *et al*, 2000). A fosforilação da tirosina na posição 985 (Tyr985) em LRb recruta a tirosina fosfatase 2 (SHP-2), a qual é

mediadora de uma via de ativação ERK. A Tyr985 também pode ter um papel importante na atenuação do sinal pela ligação do supressor inibitório de sinalização de citocinas 3 (SOCS 3) (BJORBAEK *et al*, 2000) (Figura 1).

A fosforilação de Tyr1138 recruta o fator de transcrição STAT 3 ao complexo LRb/JAK2, resultando na fosforilação e translocação nuclear de STAT 3 para efetuar a regulação da transcrição (WHITE *et al*, 1997; BANKS *et al*, 2000). Entre outros genes, STAT 3 ativa a transcrição de neuropeptídeos, proopiomelanocortina (POMC), e um sinalizador inibitório, o supressor de sinalização de citocina 3 (SOCS3) (BANKS *et al*, 2000; BATES *et al*, 2003). Fosforilação de Tyr1077 e Tyr1138 no LRb coopera para mediar a ativação de STAT 5. Por outro lado, a fosforilação de JAK2 durante a estimulação de LRb medeia muitos sinais independentemente dos sítios de fosforilação de tirosina no LRb, mas a exata natureza e função desses sinais ainda não foram compreendidos (BANKS *et al*, 2000) (Figura 1).

Os papéis das diversas vias de sinalização intracelulares da leptina têm sido examinados na regulação do balanço energético. A inibição farmacológica de fosfatidilinositol cinase 3 (PI3K) bloqueou a supressão da ingestão alimentar pela leptina, sugerindo que a sinalização da PI3K contribui para a regulação energética efetuada pela leptina (NISWENDER *et al*, 2001). Assim como a inibição de SHP-2 ou STAT 3 em neurônios do proencéfalo resultou em superalimentação e obesidade (ZHANG *et al*, 2004), porém, não é claro se esta obesidade é resultado de perturbações na sinalização da leptina por si só, ou é consequência menos específica da supressão generalizada dessas moléculas de sinalização.

O papel da sinalização LRb/STAT3 no balanço energético foi claramente estabelecido através de um estudo em roedores contendo uma substituição homóloga de LRb por um receptor mutante para Tyr1138 (BATES *et al*, 2004). O sinal da LRb/STAT3 por Tyr1138 é necessário para o controle da alimentação e gasto de energia pela leptina, embora este sinal não seja absolutamente necessário para a regulação do crescimento, reprodução, função imunológica, e controle glicêmico (BATES *et al*, 2003; 2005). Assim, outra via de sinalização deve mediar estas funções independente de LRb/STAT3.



## 5. LEPTINA NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

### 5.1. CONTROLE ALIMENTAR

O hipotálamo é o principal local de interação entre diversos fatores de origem central e periférica para a regulação da homeostase energética. Isto foi demonstrado através de estudos de lesões em algumas regiões do hipotálamo, onde na área ventromedial as lesões causavam hiperfagia e obesidade (HETHERINGTON & RANSON, 1940), e na região lateral causavam afagia e até mesmo morte por inanição (ANAND & BROBECK, 1951).

O controle da homeostase energética pelo hipotálamo abrange uma grande quantidade de peptídeos anorexígenos e orexígenos, os quais são responsáveis pelos sinais de saciedade e fome, respectivamente. Entre os tipos neuronais no hipotálamo, mais precisamente no núcleo arqueado, dois são muito estudados, os neurônios produtores de neuropeptídeo Y (NPY) e os neurônios produtores de proopiomelanocortina (POMC), devido, principalmente, aos seus papéis importantes e opostos na regulação da ingestão alimentar (SCHWATZ *et al*, 2000) (Figura 2).

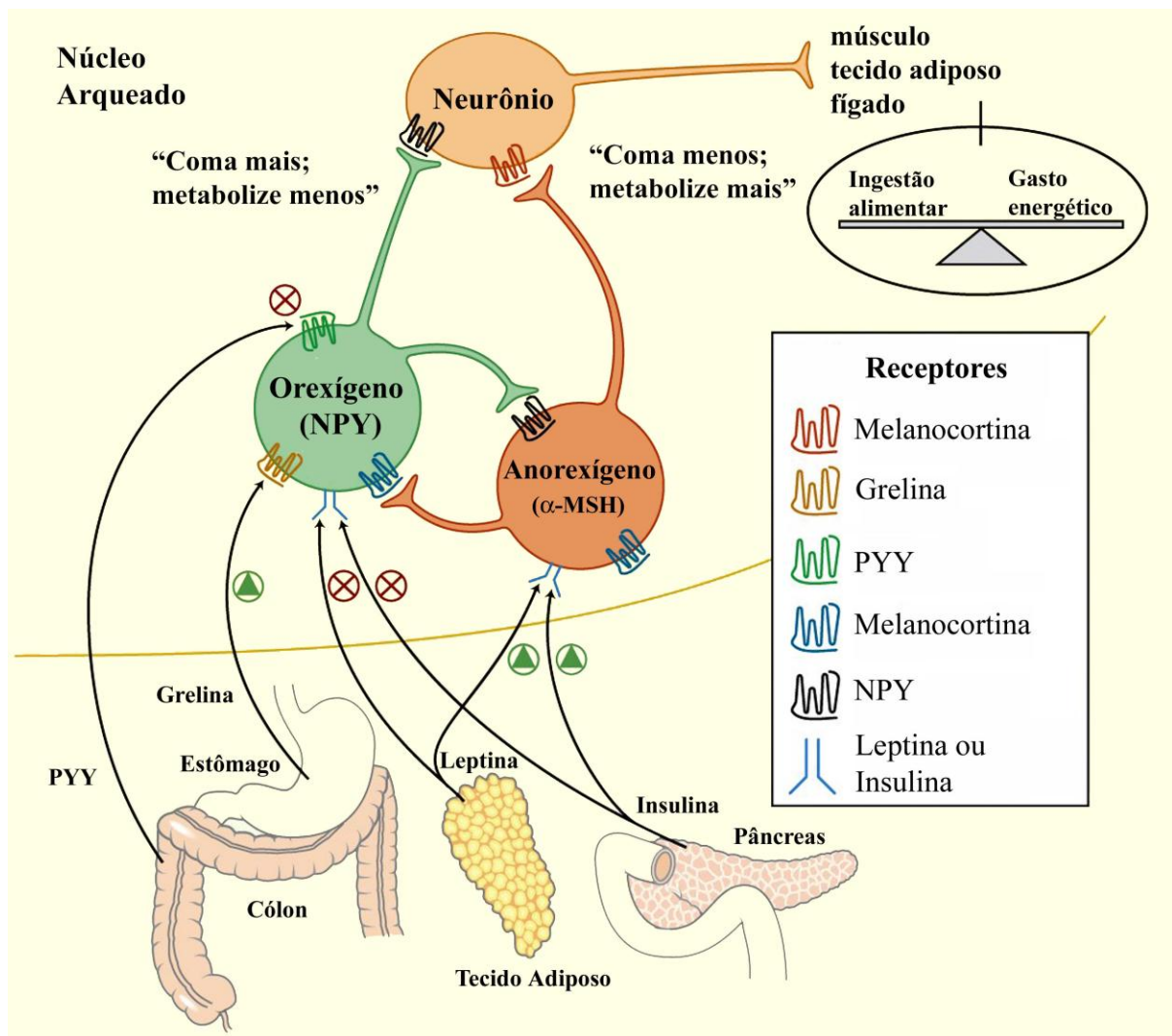
A atividade neuronal NPY é aumentada antes do início da alimentação natural e na hiperfagia vista em modelos experimentais de diabetes e obesidade (WHITE, 1993). Estes neurônios co-expressam a proteína relacionada ao Agouti (AgRP), que tem também papel orexígeno (SCHWATZ *et al*, 2000). Infusão central de NPY ou de AgRP levam ao aumento na ingestão alimentar e consequente obesidade (KORNER *et al*, 2003).

Em contraste aos neurônios NPY/AgRP, os neurônios POMC estão envolvidos na redução da ingestão alimentar e do peso corporal (CONE, 1999). Esses neurônios apresentam o sistema melanocortina, no qual o produto de clivagem da POMC, o hormônio estimulador da  $\alpha$ -melanocortina ( $\alpha$ -MSH), atua sobre os neurônios alvo causando diminuição da ingestão alimentar, aumento do gasto energético e regulação do metabolismo glicídico (KRUDE *et al*, 1998; PARTON *et al*, 2007).

O AgRP atua como um antagonista nos receptores do  $\alpha$ -MSH, enquanto o NPY regula a atividade neuronal nos receptores de NPY, e bloqueia a anorexia mediada pelo  $\alpha$ -MSH. Além disso, os neurônios NPY/AgRP agem diretamente inibindo os neurônios POMC através

da sinalização inibitória pelo GABA (TONG *et al*, 2008). O papel crítico destes dois tipos de neurônios tem sido demonstrado através de modelos de remoção aguda de determinados tipos de neurônios ligados à hiperfagia (remoção dos neurônios POMC) ou à hipofagia (remoção dos neurônios NPY/AgRP) (GROPP *et al*, 2005). Estes estudos demonstraram que a relação dos neurônios NPY/AgRP com o GABA é necessária para a alimentação (WU *et al*, 2009).

**Figura 2:** Controle Alimentar no Hipotálamo (Adaptado de Lehninger, 5ª edição)



NPY – neuropeptídeo Y;  $\alpha$ -MSH –  $\alpha$ -melanocortina; PYY – peptídeo YY

Outra substância importante na regulação da homeostase energética é o hormônio pancreático insulina. Este hormônio é um dos primeiros sinais periféricos a agirem no cérebro em resposta a ingestão de alimentos. A insulina circula no plasma, assim como a leptina, em concentrações proporcionais aos estoques energéticos (BAGDADE *et al*, 1967). E, seus

receptores estão presentes em neurônios envolvidos na regulação energética, nos quais este hormônio age diminuindo a ingestão alimentar (BASKIN *et al*, 1988).

A cinase dependente de AMP (AMPK) é outra proteína envolvida no controle energético pelo Sistema Nervoso Central. A diminuição nos níveis energéticos pelas células acaba aumentando a razão AMP/ATP, o que gera uma ativação da AMPK, resultando na indução da geração de ATP, assim como a redução de seu consumo. No hipotálamo esta ativação por parte da AMPK aumenta o consumo energético (MINOKOSHI *et al*, 2004).

Diversas outras substâncias estão envolvidas no controle da homeostase energética por parte do hipotálamo, como o Peptídeo de Liberação de Prolactina (PrRP) e o Peptídeo Ligante de Galanina (GALP), que interagem com a leptina e reduzem a ingestão alimentar e o peso corporal (ELLACOTT *et al*, 2002; LAWRENCE *et al*, 2003). Em contraste, a grelina, que é produzida no estômago e no hipotálamo e tem ação orexígena, principalmente através da ativação de seus receptores nos neurônios NPY/AgRP (ZIGMAN & ELMQUIST, 2003).

#### 5.1.1. O PAPEL DA LEPTINA NO CONTROLE ALIMENTAR

O hipotálamo é proposto como o maior local de ação da leptina no controle da homeostase energética. Esse hormônio teve ação mais potente na regulação alimentar quando administrada centralmente em comparação a sua administração periférica em doses similares (CAMPFIELS *et al*, 1995), reforçando o papel central da regulação energética. Microinjeções na região do núcleo arqueado levaram a uma resposta anorexígena (TANG-CHRISTENSEN *et al*, 1999), adicionalmente, leptina administrada intracerebroventricularmente após a destruição do núcleo arqueado não teve sua resposta eficaz na redução da ingestão alimentar, demonstrando que a ação da leptina ocorre principalmente nesta área do hipotálamo (DAWSON *et al*, 1997).

Estudos subsequentes mostraram uma alta expressão da forma longa do receptor de leptina (LRb) no hipotálamo, além da identificação de diversos neurônios de produção de peptídeos orexígenos e anorexígenos como alvo de sinalização da leptina. Estes neurônios estão localizados principalmente no núcleo arqueado, hipotálamo lateral e paraventricular,

regiões conhecidas pela produção e integração de sinais neurais envolvidos na homeostase energética (SCHWATZ *et al*, 2000).

Entre os neurônios sensíveis à leptina podem-se citar os neurônios do núcleo arqueado NPY e POMC, os quais têm ação orexígena e anorexígena respectivamente. A leptina, por sua vez, age reduzindo a atividade neuronal dos neurônios NPY e estimulando a dos neurônios da POMC, como o esperado (AHIMA *et al*, 1996), assim como pode agir aumentando a expressão gênica de GALP e PrRP no hipotálamo, as quais vão agir em interação com a leptina para reduzir a ingestão alimentar (GUNDLICH, 2002; ELLACOTT *et al*, 2003).

A leptina age sobre a transcrição de POMC através do sistema JAK-STAT3 descrito anteriormente (XU *et al*, 2007). Sua ação sobre os neurônios envolvidos na regulação energética também pode ser via PI3K que é a via de sinalização utilizada também pela insulina (NISWENDER *et al*, 2001), porém a cascata de sinalização da leptina por esta via ainda não está estabelecida. Outro alvo molecular tanto da leptina quanto da insulina na homeostase energética é a diminuição da fosforilação e consequente desativação da AMPK no hipotálamo (MINOKOSHI *et al*, 2004).

A grelina e a leptina tem uma interação funcional, onde a grelina bloqueia os efeitos da leptina na alimentação, assim como a administração de leptina atenua os efeitos da grelina sobre a ingestão alimentar (SHINTANI *et al*, 2001). Inclusive, a leptina atenua a ação da grelina sobre os neurônios NPY (KOHNO *et al*, 2003), e esta regulação sobre os neurônios hipotalâmicos, particularmente sobre os neurônios NPY/AgRP, pode ser um mecanismo importante da sinalização da leptina sobre o hipotálamo.

A ação da leptina no hipotálamo é mediada por muitos peptídeos orexígenos e anorexígenos em diferentes áreas do hipotálamo. Em relação a sua ação, a leptina não age somente modificando a expressão gênica destes neuropeptídeos, ela também pode mediar a ação destes após serem secretados. Há diversas conexões, tanto morfológicas quanto funcionais, entre os neurônios orexígenos e anorexígenos, sugerindo que a leptina também possa agir alterando estas interações entre os neurônios para cumprir seu papel na homeostase energética (SAHU, 2004).

## 5.2. CONTROLE DA HOMEOSTASE DA GLICOSE

Adicionalmente aos efeitos da leptina sobre o controle da homeostase energética, diversos estudos vêm relacionando a leptina ao controle da homeostase da glicose, principalmente sobre a sensibilidade periférica à insulina. As primeiras evidências iniciaram-se com a descoberta dos ratos ob/ob os quais desenvolveram, além da hiperfagia e da obesidade, resistência à insulina ou até mesmo diabetes (COLEMAN, 1978). Embora este aumento do consumo alimentar e de adiposidade modulem por si só o metabolismo da glicose, há evidências de que a leptina possa agir de forma independente sobre a homeostase glicídica (MORTON & SCHWARTZ, 2011).

Durante uma restrição calórica nos animais deficientes de leptina ou de seu receptor há uma melhora na sensibilidade à insulina (MORTON *et al*, 2005; WYSE & DULIN, 1970). Além disso, a administração de leptina nestes animais, assim como em humanos deficientes de leptina, também melhora a hiperglicemia e a hiperinsulinemia, mesmo em situações de alimentação não controlada (FAROOQI *et al*, 1999; HEDBACKER *et al*, 2010; SCHWARTZ *et al*, 1996). Isso demonstra que a leptina tem um papel por si só sobre a sensibilidade à insulina.

Atualmente, diversas evidências apontam para um papel importante do Sistema Nervoso Central na regulação da homeostase da glicose pela leptina. Estudos relataram uma ação da leptina sobre a homeostase glicídica similar quando administrada de forma intravenosa em relação a administração de doses muito menores intracerebroventricularmente (ICV) em roedores (LIU *et al*, 1998; KAMOHARA *et al*, 1997). Similarmente, doses pequenas de leptina administradas ICV em ratos ob/ob melhoraram o fenótipo de resistência à insulina e diabetes presente nestes roedores (ASILMAZ *et al*, 2004), bem como a administração de leptina ICV normalizou os níveis de glicose em ratos diabéticos e em doses iguais administradas periféricamente não houve efeito (DA SILVA *et al*, 2006; HIDAKA *et al*, 2002).

A fim de demonstrar os mecanismos pelos quais a leptina controla a homeostase da glicose, German e colaboradores (2011) administraram leptina diretamente no cérebro de ratos diabéticos e encontraram uma normalização dos níveis de glicose sanguínea. Este ajuste nos níveis de glicose não foi relacionado à redução na ingestão alimentar, aumento da

excreção urinária de glicose ou recuperação das células  $\beta$ -pancreáticas. Entretanto, a ação da leptina no cérebro suprime potencialmente a produção hepática de glicose e aumenta a captação desta pelo tecido adiposo e músculo esquelético, apesar da deficiência de insulina.

Diversos estudos vêm tentando explicar as vias pelas quais a leptina leva a uma alteração na homeostase da glicose. A estimulação da gliconeogênese após administração de leptina ICV foi bloqueada após a inibição da sinalização dos neurônios melanocortina, enquanto a supressão da leptina sobre a glicólise permaneceu intacta (GUTIERREZ *et al*, 2004). Então, esta estimulação farmacológica da leptina sobre a gliconeogênese parece ser dependente da via melanocortina, enquanto seu efeito sobre a glicólise é independente desta via. O efeito agudo da sinalização da leptina no hipotálamo sobre o fluxo de glicose no fígado requer a sinalização do receptor de leptina via STAT3 (BUETTNER *et al*, 2006).

A leptina através de sua ação no hipotálamo também regula a captação de glicose independente de insulina no músculo esquelético, coração e no tecido adiposo (MINOKOSHI *et al*, 1999), através de mecanismos que envolvem o sistema nervoso simpático (HAQUE *et al*, 1999) e este efeito também parece ser dependente da via melanocortina (TODA *et al*, 2009).

### 5.3. EXCITABILIDADE NEURONAL

Estudos anteriores demonstraram que algumas das ações da leptina em nível periférico e central se devem à ativação de canais de potássio sensíveis a ATP (KATP) (WILLIAMS & SMITH, 2006). Similarmente, a leptina inibe os neurônios hipocámpais de ratos através de aumento na condução de  $K^+$ , porém os canais KATP não são o alvo da leptina nestas células (SHANLEY *et al*, 2002). Os canais de  $K^+$  ativados por  $Ca^+$  (BK) consistem da formação de uma subunidade  $\alpha$  com ou sem a regulação de uma subunidade  $\beta$ . A leptina é capaz de aumentar a atividade dos canais BK em células que apresentam apenas a subunidade  $\alpha$ , demonstrando que sua ação não depende da subunidade  $\beta$  (TORO *et al*. 1998).

A modulação da atividade dos canais BK pela leptina envolve o mecanismo via PI3K (SHANLEY *et al*, 2002). Alguns estudos demonstraram que uma série de eventos através da via PI3K juntamente com os receptores de leptina levam a rápidas alterações na actina do

citoesqueleto e subsequente estimulação dos canais BK (O'MALLEY *et al*, 2005). Esse processo é paralelo aos efeitos da leptina sobre os neurônios hipotalâmicos (HARVEY *et al*, 2000).

A ativação de PI3K pelo receptor de leptina nos neurônios hipocâmpais tem sido mostrada resultando na ativação de fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato na membrana sináptica, o que promove a despolarização e reorganização dos filamentos de actina. Isto resulta na ativação e agregação dos receptores BK nas sinapses hipocâmpais (O'MALLEY *et al*, 2005).

A ativação dos canais BK nos neurônios hipocâmpais resulta na geração de rápida hiperpolarização, o que é, por sua vez, responsável pela repolarização dos potenciais de ação. Assim, os canais BK são susceptíveis a relacionar um papel chave na determinação das taxas de potencial de ação e nos padrões de disparo. Então, é concebível que a ativação dos canais BK pela leptina regula o nível de excitabilidade hipocâmpal (HARVEY, 2007).

Outros estudos demonstraram que a aplicação de leptina em modelos de epilepsia induzida por  $Mg^{2+}$  livre levou a atenuação rápida dos níveis de  $Ca^{2+}$  intracelular (SHANLEY *et al*, 2002), sem alterar os níveis de  $Ca^{2+}$  em condição controle. Contudo, essa habilidade da leptina em modular a excitabilidade neuronal não está ligada apenas ao hipocampo, esta também pode influenciar na atividade dos neurônios produtores de NPY (TAKAHASHI & CONE, 2005). Em contraste a leptina pode aumentar a frequência de descargas epiléticas no córtex somatomotor, sugerindo que esta pode ter ação pro-convulsivante nesta região cerebral (AYYILDIZ *et al*, 2006).

Diversas evidências indicam que a incidência de crises de epilepsia pode ser controlada através de mudanças na homeostase energética com dietas, como o jejum, a dieta cetogênica e a restrição calórica (GREENE *et al*, 2003). Assim, a leptina pode ser um dos muitos fatores que contribuem para a influência do balanço energético sobre a excitabilidade neuronal na epilepsia.

#### 5.4. APRENDIZAGEM E MEMÓRIA

Já está estabelecido que a função chave do hipocampo é relacionada a aprendizagem e memória. De fato, ocorre no cérebro uma forma de plasticidade sináptica chamada de potenciação de longa duração (LTP), e este fenômeno está correlacionado a aspectos da aprendizagem, memória e habituação. No hipocampo, a LTP é dependente do receptor ionotrópico de glutamato, o N-metil-D-aspartato (NMDA), o qual contribui para a formação da memória espacial (BLISS & COLLINGRIDGE, 1993).

A ativação dos receptores NMDA pós-sinápticos e aumento concomitante de  $Ca^{2+}$  intracelular são pré-requisitos para a indução da LTP no hipocampo. Inclusive, diversos fatores de crescimento e hormônios podem influenciar na LTP hipocampal, estas ações ocorrem principalmente através da modulação da função do receptor NMDA (BLISS & COLLINGRIDGE, 1993).

A leptina tem sido relacionada com plasticidade sináptica hipocampal. Os roedores que possuíam mutações no receptor de leptina (db/db) apresentam deficiências na LTP hipocampal e depressão, além de déficits de memória específicas do hipocampo (LI *et al*, 2002; WINOCUR *et al*, 2005). A administração de leptina direto no hipocampo de roedores melhora a aprendizagem e a memória (OOMURA *et al*, 2006), facilita a LTP hipocampal (WAYNER *et al*, 2004) e também pode facilitar a conversão da potenciação de curto prazo (STP) em LTP (SHANLEY *et al*, 2001).

O'Malley e colaboradores (2007) demonstraram que a leptina promove rápido remodelamento dos dendritos hipocampais, através de um processo que exige a ativação de uma subunidade dos receptores NMDA e a cascata de sinalização MAPK (ERK). Este efeito da leptina está associado com a formação de novas conexões sinápticas como também reforça rapidamente a densidade das sinapses hipocampais.

Anteriormente alguns estudos mostraram que as mudanças na morfologia dendrítica através de neurotrofinas, como por exemplo o BDNF, ocorre horas após a exposição a estes agentes. Entretanto, o remodelamento dendrítico induzido por leptina ocorre numa escala de tempo muito mais rápida, cerca de minutos. Além disso, o tempo em que demoram pra acontecer estas mudanças induzidas pela leptina é similar ao tempo necessário para que ocorra mudanças na indução do LTP hipocampal (HARVEY, 2007).



## 5.5. NEUROPROTEÇÃO

Diversos fatores de crescimento atuam sobre os neurônios protegendo contra a neurodegeneração e a morte celular (SIGNORE *et al*, 2008). Assim como a leptina, que tem ação neuroprotetora, aumentando a sobrevivência neuronal *in vitro* e *in vivo* em modelos de lesão isquêmica cerebral (TANG, 2008). Esta ação da leptina pode ser vista em diversas células não neurais inibindo a morte celular por apoptose (FUJITA *et al*, 2002; SHIMABUKURO *et al*. 1998).

Em análises *in vitro* a leptina parece atenuar a morte celular induzida pela remoção de soro ou de neurotrofinas (GUO *et al*, 2008; RUSSO *et al*, 2004), melhorar a sobrevivência celular em modelos de acidente vascular cerebral isquêmico (ZHANG *et al*, 2007; ZHANG & CHEN, 2008), assim como proteger contra a excitotoxicidade glutamatérgica (GUO *et al*, 2008; DICOU *et al*, 2001), estresse oxidativo (GUO *et al*, 2008) e promover a proliferação de células progenitoras do hipocampo (GARZA *et al*, 2008).

Os efeitos *in vitro* da leptina são também replicados em experimentos *in vivo*, onde a leptina atenua a perda de neurônios dopaminérgicos em um modelo de indução química de Parkinson (WENG *et al*, 2007). Outro estudo mostrou que ratos deficientes de leptina foram mais sensíveis à oclusão da artéria cerebral média, o tratamento com leptina após este procedimento diminuiu o volume de infarto e melhorou a recuperação dos animais (ZHANG *et al*, 2007). A leptina também se mostrou eficaz em reduzir os sintomas de ataques epiléticos induzidos quimicamente por 4-aminopiridina (XU *et al*, 2008).

Os efeitos neuroprotetores da leptina parecem resultar de suas vias de sinalização intracelular associadas com sinalização de fatores de crescimento, incluindo a ativação de STAT3, PI3K e ERK/MAPK. Todos esses dados apóiam a hipótese da ação neuroprotetora da leptina.

## 5.6. LEPTINA E DOENÇA DE ALZHEIMER

A DA é caracterizada por uma perda da função cognitiva pelo acúmulo e deposição extracelular de  $\beta$ -amiloide ( $\beta$ A), sob a forma de placas proteicas. Outra característica da DA são as alterações neurofibrilares, as quais resultam da hiperfosforilação da proteína tau que formam emaranhados, perturbam a função dos microtúbulos e levam à ruptura dendrítica, perda sináptica entre outros fatores. O risco para a DA aumenta com a idade, porém a causa subjacente ainda é desconhecida (ASHFORD *et al*, 1998).

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que pacientes com diabetes mellitus (LUCHSINGER, 2008; OTT *et al*, 1999), resistência à insulina ou hiperinsulinemia (MAZZALI *et al*, 2002) apresentam maior risco de desenvolver DA. Nestes pacientes, a sinalização anormal de insulina e a utilização anômala de glicose pelo Sistema Nervoso Central, pode perturbar as células cerebrais metabolicamente, o que pode contribuir para a acumulação extracelular de  $\beta$ A e para a formação de emaranhados neurofibrilares (JOHNSTON *et al*, 2011).

Níveis alterados de leptina estão relacionados com a DA. O primeiro estudo a apontar esta evidência foi publicado em 2001 por Power e colaboradores onde encontraram baixos níveis de leptina em pacientes com a DA. A partir daí, estudos de coorte, que acompanharam indivíduos durante determinado período de tempo, demonstraram que idosos com altos níveis de leptina foram menos propensos a desenvolver DA do que aqueles com baixos níveis de leptina (HOLDEN *et al*, 2009; LIEB *et al*, 2009). Além disso, os participantes do quartil mais baixo para os níveis de leptina apresentavam quatro vezes mais risco de desenvolver DA do que os do quartil mais alto. E quando os níveis de leptina foram correlacionados com IMC e percentual de gordura, os níveis de leptina não eram protetores em indivíduos obesos, possivelmente devido a resistência à leptina presente neste grupo (LIEB *et al*, 2009).

A leptina tem demonstrado ação direta na regulação dos níveis de  $\beta$ A *in vitro* e *in vivo* (FEWLASS *et al*, 2004; GRECO *et al*, 2010). Em estudos em culturas celulares a leptina reduziu a secreção de  $\beta$ A e aumentou a captação de apo-E dependente de  $\beta$ A através da regulação de lipídeos e fluidez da membrana neuronal. E também reduziu o acúmulo da tau fosforilada (GRECO *et al*, 2008). Uma possível via da leptina para estes efeitos poderia ser via AMPK (GRECO *et al*, 2011).

O tratamento crônico de ratos transgênicos para DA com leptina teve efeitos benéficos sobre o declínio cognitivo. Este tratamento também reduziu os níveis de  $\beta$ A no cérebro, o tamanho das placas e a fosforilação da tau, comparados ao controle (GRECO *et al*, 2010).

Atualmente, a reposição de leptina tem sido proposta como uma terapia para a DA. Estudos analisaram a administração de leptina a fim de se identificar sua dose de confiança e meia vida, nestes estudos não houve reações adversas nos grupos testados (CHAN *et al*, 2008; MACKINTOSH & HIRSCH, 2001). Já existem terapias de reposição de leptina as quais não apresentam efeitos adversos (PAZ-FILHO *et al*, 2011; MUSSO *et al*, 2005). Porém, para que a leptina possa ser utilizada como terapia na DA ainda serão necessários testes mais rigorosos.

## **6. OBESIDADE E RESISTÊNCIA À LEPTINA**

A obesidade é um problema de saúde crescente e é fator de risco para outras doenças crônicas como o diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares (ROTH, 1998). Esta pode ser causada, além dos diversos fatores envolvidos, por um déficit de leptina ou de seu receptor, entretanto, na maioria dos casos de obesidade há níveis circulantes elevados deste hormônio, sendo proporcionais a quantidade de tecido adiposo (CONSIDINE *et al*, 1996; FAROOQI & O'RAHILLY, 2005). O fato de que a leptina circulante nesses indivíduos obesos não age diminuindo a alimentação intrigou muitos pesquisadores e deu origem a diversas especulações a respeito de uma resistência fisiológica a este hormônio.

Diversos mecanismos têm sido propostos para explicar a resistência à leptina, que incluem alterações no transporte da leptina através da barreira hematoencefálica, alterações na sinalização celular por parte dos receptores, entre outros (MANESS *et al*, 2000; LEVIN *et al*, 2004). Ainda não estão claros quais são os mediadores cruciais que levam a resistência à leptina, porém, cada um destes mecanismos pode contribuir na sua totalidade.

A leptina é transportada através da barreira hematoencefálica (BHE) por um sistema saturável, o qual pode ser em parte através das isoformas curtas de receptores de leptina (como a isoforma LRA) (BANKS, 2004). O que foi demonstrado através de estudo com ratos deficientes de todas as isoformas de receptores de leptina, nos quais há uma diminuição na velocidade de transporte de leptina da circulação para o cérebro (KASTIN *et al*, 1999). Em

modelos de obesidade animal induzida por dieta, há uma diminuição no transporte de leptina através da BHE, demonstrando que este pode ser um dos mecanismos envolvidos na resistência à leptina presente nesses animais (LEVIN *et al*, 2004).

A diminuição da sinalização de LRb também pode ser um mecanismo que leva à resistência. A inibição da sinalização de LRb pode ser mediada através de um feedback negativo pela molécula SOCS3 (BJORBAEK *et al*, 2000; HOWARD *et al*, 2004). O papel da SOCS3 em limitar a ação de LRb tem sido vista em modelos de obesidade animal os quais apresentam elevação da SOCS3 no Sistema Nervoso Central (HOWARD *et al*, 2004; BJORBAEK *et al*, 1999). A via LRb-STAT3 estimula a expressão de SOCS3 (BANKS *et al*, 2000; BJORBAEK *et al*, 2000), sugerindo que os altos níveis de leptina podem induzir a expressão de SOCS3 e resultar na atenuação da sinalização de LRb durante a obesidade (MUNZBERG *et al*, 2005).

A resistência à leptina dos animais com obesidade induzida por dieta ocorre principalmente na área do núcleo arqueado do hipotálamo (ENRIORI *et al*, 2007; MUNZBERG *et al*, 2004). O aumento da expressão de SOCS3 nestes roedores está localizado principalmente nesta área (KROL *et al*, 2007). Há certamente outros mecanismos pelos quais a resistência à leptina pode ser mediada, assim como outros indutores da expressão de SOCS3 como a interleucina-6 e o fator de necrose tumoral  $\alpha$ , os ácidos graxos, ou os corticosteróides (MUNZBERG *et al*, 2005).

## 7. CONCLUSÃO

Conclui-se com o presente estudo que a leptina pode ter diversas funções tanto centrais quanto periféricas no organismo, além da sua função inicialmente proposta como reguladora da homeostase energética, podendo-se citar seus efeitos em nível central sobre o controle da homeostase da glicose, excitabilidade neuronal, aprendizado e memória.

O papel da leptina como neuroprotetora em algumas patologias, incluindo a Doença de Alzheimer, pode servir como uma proposta terapêutica para essas doenças neurológicas, entretanto, ainda são necessários muitos estudos para avaliar a eficácia desse tipo de tratamento assim como suas consequências. Apesar de níveis elevados de leptina serem em algumas situações benéficos para o Sistema Nervoso Central, pode ocorrer resistência a este hormônio, sendo na sinalização ou na saturação de sua passagem pela BHE, como o observado em indivíduos obesos, por isso deve-se ter cautela na utilização deste hormônio como uma forma de tratamento.

## REFERÊNCIAS

- AHIMA, R.S. & FILIER, J.S. Leptin. **Annu Rev Physiol** 62:413–437. 2000.
- AHIMA, R.S. et al. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. **Nature** 382:250–252. 1996.
- ANAND, B.K. & BROBECK, J.R. Localization of feeding center in the hypothalamus of the rat. **Proc Soc Exp Biol Med** 11:323–324. 1951.
- ARNARDOTTIR, E.S. The role of obesity, different fat compartments and sleep apnea severity in circulating leptin levels: the Icelandic Sleep Apnea Cohort study. **Int J Obes (Lond)**. 2012
- ASHFORD, JW. et al. Neuropil threads are collinear with MAP2 immunostaining in neuronal dendrites of Alzheimer brain. **J Neuropathol Exp Neurol** 57(10):972–978. 1998.
- ASILMAZ, E. et al. Site and mechanism of leptin action in a rodent form of congenital lipodystrophy. **J Clin Invest** 113: 414–424. 2004.
- AYYILDIZ, M. et al. The effect of leptin on penicillin-induced epileptiform activity in rats. **Brain Res Bull** 68:374-378. 2006.
- BADO, A. et al. The stomach is a source of leptin. **Nature**. 394: 790 – 793. 1998.
- BAGDADE, J. D. BIERMAN, E. L. & PORTE, D. Jr. The significance of basal insulin levels in the evaluation of the insulin response to glucose in diabetic and nondiabetic subjects. **J. Clin. Invest.** 46, 1549–1557. 1967.
- BANKS, AS. et al. Activation of downstream signals by the long form of the leptin receptor. **J Biol Chem** 275:14563–72. 2000.
- BANKS, WA. The many lives of leptin. **Peptides** 25: 331–338. 2004.
- BASKIN, D. G. et al. Insulin and insulin-like growth factors in the CNS. **Trends Neurosci.** 11, 107–111. 1988.

BATES, SH, Kulkarni RN, Seifert M, Myers MG Jr. Roles for leptin receptor/STAT3-dependent and -independent signals in the regulation of glucose homeostasis. **Cell Metabolism** 1:169–78. 2005.

BATES, SH. et al. LRB-STAT3 signaling is required for the neuroendocrine regulation of energy expenditure by leptin. **Diabetes** 53:3067–73. 2004.

BATES, SH. Stearns WH, Schubert M, et al. STAT3 signaling is required for leptin regulation of energy balance but not reproduction. **Nature** 421:856–9. 2003.

BERTILE, F. & RACLOT, T. The melanocortin system during fasting. **Peptides** 27:291-300. 2006.

BJORBAEK, C. et al. Expression of leptin receptor isoforms in rat brain microvessels. **Endocrinology** 139:3485–91. 1998.

BJORBAEK, C. EL HASCHIMI, K. FRANTZ, JD. & FLIER, JS. The role of SOCS-3 in leptin signaling and leptin resistance. **J. Biol. Chem.** 274: 30059–30065, 1999.

BJORBAEK, C. et al. SOCS3 mediates feedback inhibition of the leptin receptor via Tyr985. **J. Biol. Chem** 275:40649–40657. 2000.

BJORBAEK, C. Central Leptin Receptor Action and Resistance in Obesity. **J Investig Med** 57: 789–794. 2009.

BLISS, TV. COLLINGRIDGE, GL. A synaptic model of memory: longterm potentiation in the hippocampus. **Nature** 361:31-39. 1993.

BODEN G, Chen X, Mazzoli M, Ryan I. Effect of fasting on serum leptin in normal human subjects. **J Clin Endocrinol Metab** 81: 2419 – 3423. 1996.

BRABANT, G. et al. Free and protein bound leptin are distinct and independently controlled factors in energy regulation. **Diabetologia** 43:438–42. 2000.

BUETTNER, C. et al. Critical role of STAT3 in leptin's metabolic actions. **Cell Metab** 4: 49–60. 2006.

CAMPFIELDS, LA. et al. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. **Science** 269:546–549. 1995.

CHAN, JL. WONG, SL. MANTZOROS, CS. Pharmacokinetics of subcutaneous recombinant methionyl human leptin administration in healthy subjects in the fed and fasting states: regulation by gender and adiposity. **Clin Pharmacokinet** 47(11):753–764. 2008.

CHEN, S-C. et al. Splice variants of the ob receptor gene are differentially expressed in brain and peripheral tissues of mice. **J Recept Signal Transm R** 19: 245 – 266. 1999.

CHIARA, VI & CHIARA SE. Artigos de Revisão: contribuições com enfoque em Ciência da Nutrição. **Rev. Nutr.** 19(1):103-110, 2006.

COLEMAN, D.L. Effects of parabiosis of obese with diabetes and normal mice, **Diabetologia** 9:294-298. 1973.

COLEMAN, DL. Obese and diabetes: two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice. **Diabetologia** 14: 141–148. 1978.

CONE, RD. The central melanocortin system and energy homeostasis. **Trends Endocrinol Metab** 10:211–216. 1999.

CONSIDINE, RV. et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. **N. Engl. J. Med** 334:292–95. 1996.

DA SILVA, AA. TALLAM, LS. LIU, J. HALL, JE. Chronic antidiabetic and cardiovascular actions of leptin: role of CNS and increased adrenergic activity. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol** 291: R1275–R1282. 2006.

DAWSON, R. et al. Attenuation of leptin-mediated effects by monosodium glutamate-induced arcuate nucleus damage. **Am. J. Physiol.** 273, E202–E206. 1997.

DEVOS, R. et al. Ligand-independent Dimerization of the Extracellular Domain of the Leptin Receptor and Determination of the Stoichiometry of Leptin Binding. **J Biol Chem** 272:18304–10. 1997.

DICOU, E. et al. Neuroprotective effects of leptin in vivo and in vitro. **NeuroReport** 12 3947–3951. 2001.

ELIAS, A. N. et al. Leptin and IGF-I levels in unconditioned male volunteers after short-term exercise. **Psychoneuroendocrinology** 25:453–461, 2000.



ELLACOTT, KL. et al. PRL-releasing peptide interacts with leptin to reduce food intake and body weight. **Endocrinology** 143:368–374. 2002.

ELLACOTT, KL. et al. Repeated administration of the anorectic factor prolactin-releasing peptide leads to tolerance to its effects on energy homeostasis. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol** 285:R1005–R1010. 2003.

ENRIORI, PJ. et al. Diet-induced obesity causes severe but reversible leptin resistance in arcuate melanocortin neurons. **Cell Metab** 5:181–94. 2007.

FAROOQI, IS. & O'RAHILLY, S. Monogenic obesity in humans. **Annu. Rev. Med** 56:443–58. 2005.

FAROOQI, IS. et al. Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. **N Engl J Med** 341: 879–884. 1999.

FEI, H. et al. Anatomic localization of alternatively spliced leptin receptors (Ob-R) in mouse brain and other tissues. **Proc Natl Acad Sci USA** 94:7001–5. 1997.

FEVE, B. & BASTARD, J. From the conceptual basis to the discovery of leptin. **Biochimie** 94: 2065-2068. 2012.

FEWLASS, DC. et al. Obesity-related leptin regulates Alzheimer's A $\beta$ . **FASEB J** 18(15):1870–1878. 2004.

FISHER, J. S. et al. Acute exercise effect on postabsorptive serum leptin. **J Appl Physiol** 91:680–686, 2001.

FONG, TM et al. Localization of leptin binding domain in the leptin receptor. **Mol Pharmacol** 53:234–40. 1998.

FRUHBECK, G. Intracellular signalling pathways activated by leptin. **Biochemical Journal** 393 7–20. 2006.

FUJITA, Y. et al. Leptin inhibits stress-induced apoptosis of T lymphocytes. **Clin. Exp. Immunol.** 128 21–26. 2002.

GARZA, J.C. et al. Leptin increases adult hippocampal neurogenesis in vivo and in vitro. **J. Biol. Chem.** 283 18238–18247. 2008.

GERMAN, JP. Leptin activates a novel CNS mechanism for insulin-independent normalization of severe diabetic hyperglycemia. **Endocrinology** 2: 394–404. 2011.

GRECO, SJ. et al. Leptin reduces Alzheimer's disease-related tau phosphorylation in neuronal cells. **Biochem Biophys Res Commun** 376(3):536–541. 2008.

GRECO, SJ. et al. Leptin reduces pathology and improves memory in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. **J Alzheimers Dis** 19(4):1155–1167. 2010.

GRECO, SJ. et al. Leptin boosts cellular metabolism by activating AMPK and the sirtuins to reduce tau phosphorylation and  $\beta$ -amyloid in neurons. **Biochem Biophys Res Commun** 414:170-174. 2011.

GREENE, AE. TODOROVA, MT. SEYFRIED, TN. Perspectives on the metabolic management of epilepsy through dietary reduction of glucose and elevation of ketone bodies. **J Neurochem** 86:529-37. 2003.

GROPP, E. et al. Agouti-related peptide-expressing neurons are mandatory for feeding. **Nat. Neurosci.** 8: 1289–1291. 2005.

GUNDLICH, AL. Galanin/GALP and galanin receptors: role in central feeding, body weight/obesity and reproduction. **Eur J Pharmacol** 440:255–268. 2002.

GUO, Z. et al. Mattson, Leptin-mediated cell survival signaling in hippocampal neurons mediated by JAK STAT3 and mitochondrial stabilization. **J. Biol. Chem.** 283 1754–1763. 2008.

GUTIERREZ, R. OBICI, S. ROSSITTI, L. Melanocortin-independent effects of leptin on hepatic glucose fluxes. **J Biol Chem** 279: 49704–49715. 2004.

HAQUE, MS. et al. Role of the sympathetic nervous system and insulin in enhancing glucose uptake in peripheral tissues after intrahypothalamic injection of leptin in rats. **Diabetes** 48: 1706–1712. 1999.

HARVEY, J. et al. Leptin activation of ATP-sensitive K<sup>+</sup> (KATP) channels in rat CRI-G1 insulinoma cells involves disruption of the actin cytoskeleton. **J Physiol** 5:95-107. 2000.

HARVEY, J. Leptin regulation of neuronal excitability and cognitive function. **Current Opinion in Pharmacology** 7:643–647 2007.

HEDBACKER, K. et al. Antidiabetic effects of IGFBP2, a leptin-regulated gene. **Cell Metab** 11: 11–22. 2010.

HETHERINGTON, AW & RANSON, SW. Hypothalamic lesions and adiposity in the rat. **Anat Rec** 78:149–172. 1940.

HIDAKA, S. et al. Chronic central leptin infusion restores hyperglycemia independent of food intake and insulin level in streptozotocin-induced diabetic rats. **FASEB J** 16: 509–518. 2002.

HOGGARD, N. et al. Leptin and leptin receptor mRNA and protein expression in the murine fetus and placenta. **Proc Natl Acad Sci USA**. 94: 11073 – 11078. 1997.

HOLDEN, KF. et al. Serum leptin level and cognition in the elderly: findings from the Health ABC study. **Neurobiol Aging** 30(9):1483–1489. 2009.

HOWARD, JK. et al. Enhanced leptin sensitivity and attenuation of diet-induced obesity in mice with haploinsufficiency of Socs3. **Nat. Med** 10: 734–738. 2004.

HUANG, L. WANG, Z. LI, C. Modulation of circulating leptin levels by its soluble receptor. **J Biol Chem** 276:6343 – 9. 2001.

HUBE, F. et al. Difference in leptin mRNA levels between omental and subcutaneous abdominal adipose tissue from obese humans. **Horm Metab Res**. 28: 690 – 693. 1996.

HUMMEL, K.P. Dickie, MM, Coleman, DL. Diabetes, a new mutation in the mouse, **Science** 153:1127-1128. 1966.

INGALLS, AM, Dickie MM, Snell GD. Obesity, a new mutation in the house mouse. **J. Hered** 41:317–18. 1950.

JIN, L. et al. Leptin and leptin receptors expression in rat and mouse pituitary cells. **Endocrinology** 141: 333 – 339. 2000.

JOHNSTON, JM. et al. Repositioning leptin as a therapy for Alzheimer's disease. **Therapy** 8(5): 481–490. 2011.

KAMOHARA, S. et al. Acute stimulation of glucose metabolism in mice by leptin treatment. **Nature** 389: 374–377. 1997.

KASTIN, A. J. et al. Decreased transport of leptin across the blood-brain barrier in rats lacking the short form of the leptin receptor. **Peptides** 20: 1449–1453. 1999.

KENNEDY, GC. The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. **Proc. R. Soc. London Ser. B** 140:578–96. 1953.

KIELAR, D. et al. Leptin receptor isoforms expressed in human adipose tissue. **Metabolism** 47:844–7. 1998.

KLOEK, C. et al. Regulation of Jak kinases by intracellular leptin receptor sequences. **J Biol Chem** 277:41547–55. 2002.

KOHNO, D. et al. Ghrelin directly interacts with neuropeptide-Y-containing neurons in the rat arcuate nucleus: Ca<sup>2+</sup> signaling via protein kinase A and N-type channel-dependent mechanisms and cross-talk with leptin and orexin. **Diabetes** 52:948–956. 2003.

KOLACZYNSKI, J.W. et al. Response of leptin to short-term and prolonged overfeeding in humans. **J Clin Endocrinol Metabol** 81:4162–4165. 1996.

KORNER, J. et al. Effects of agoutirelated protein on metabolism and hypothalamic neuropeptide gene expression. **J Neuroendocrinol** 15:1116–1121. 2003.

KOWALSKI, TJ, Liu SM, Leibel RL, Chua SC. Transgenic complementation of leptin-receptor deficiency. I. Rescue of the obesity/diabetes phenotype of LEPR-null mice expressing a LEPR-B transgene. **Diabetes** 50:425–35. 2001.

KROL, E. et al. Altered expression of SOCS3 in the hypothalamic arcuate nucleus during seasonal body mass changes in the field vole, *Microtus agrestis*. **J. Neuroendocrinol** 19:83–94. 2007.

KRUDE, H. et al. Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans. **Nat. Genet.** 19: 155–157. 1998.

LAHARRAGUE, P. et al. High expression of leptin by human bone marrow adipocytes in primary culture. **FASEB J** 12: 747 – 752. 1998.

LAWRENCE, CB. Williams, T. Luckman, SM. Intracerebroventricular galanin-like peptide induces different brain activation compared with galanin. **Endocrinology** 144:3977–3984. 2003.

LEE, GH. et al. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. **Nature** 379:632–5. 1996.

LEVIN, B. E. DUNN-MEYNELL, A. A. & BANKS, W. A. Obesity-prone rats have normal blood-brain barrier transport but defective central leptin signaling before obesity onset. **Am. J. Physiol Regul. Integr. Comp Physiol** 286: R143–R150. 2004.

LI, XL. et al. Impairment of long-term potentiation and spatial memory in leptin receptor-deficient rodents. **Neuroscience** 113:607-615. 2002.

LIEB, W. et al. Association of plasma leptin levels with incident Alzheimer disease and MRI measures of brain aging. **JAMA** 302(23):2565–2572. 2009.

LIU, L. et al. Intracerebroventricular leptin regulates hepatic but not peripheral glucose fluxes. **J Biol Chem** 273: 31160–31167. 1998.

LONNQVIST, F. et al. Overexpression of the obese (ob) gene in adipose tissue of human obese subjects. **Nat Med.** 1: 950 – 953. 1995.

LUCHSINGER, JA. Adiposity, hyperinsulinemia, diabetes and Alzheimer's disease: an epidemiological perspective. **Eur J Pharmacol** 585(1):119–129. 2008.

MACEDO, I. C. Cafeteria diet-induced obesity plus chronic stress alter serum leptin levels. **Peptides.** 2012.

MACKINTOSH, RM. HIRSCH, J. The effects of leptin administration in non-obese human subjects. **Obes Res** 9(8):462–469. 2001.

MAFFEI, M. et al. Leptin levels in human and rodents measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. **Nat Med.** 1: 1155 – 1161. 1995.

MANESS, L. M. BANKS, W. A. & KASTIN, A. J. Persistence of blood-to-brain transport of leptin in obese leptindeficient and leptin receptor-deficient mice. **Brain Res** 873:165–167. 2000.

MARGETIC, S. et al. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. **International Journal of Obesity** 26 : 1407–1433. 2002.

MASUZAKI, H. et al. Nonadipose tissue production of leptin; leptin as a novel placental-derived hormone in humans. **Nat Med.** 3: 1029 – 1033. 1997.

MAYER, O Jr. et al. An inverse association between serum leptin concentration and reported alcohol intake in patients with manifest vascular disease. **Eur J Clin Nutr.** 64(11):1350-7. 2010.

MAZZALI, G. et al. Energy balance in Alzheimer's disease. **J Nutr Health Aging** 6:247–253. 2002.

MINOKOSHI, Y. et al. AMP-kinase regulates food intake by responding to hormonal and nutrient signals in the hypothalamus. **Nature** 428: 569–574. 2004.

MINOKOSHI, Y. HAQUE, MS. SHIMAZU, T. Microinjection of leptin into the ventromedial hypothalamus increases glucose uptake in peripheral tissues in rats. **Diabetes** 48: 287–291. 1999.

MONTAGUE, C. T. et al. Depotand sex-specific differences in human leptin mRNA expression: implications for the control of regional fat distribution. **Diabetes.** 46: 342 – 347. 1997.

MORASH, B. et al. Leptin gene expression in the brain and pituitary gland. **Endocrinology** 140: 5995 – 5998. 1999.

MORTON, GJ. & SCHWARTZ, MW. Leptin and the Central Nervous System Control of Glucose Metabolism. **Physiol Rev** 91: 389–411. 2011.

MORTON, GJ. et al. Leptin regulates insulin sensitivity via phosphatidylinositol-3-OH kinase signaling in mediobasal hypothalamic neurons. **Cell Metab** 2: 411–420. 2005.

MORTON, NM. et al. Leptin action in intestinal cells. **J Biol Chem** 273:26194– 201. 1998.

MUNZBERG, H. et al. Leptin receptor action and mechanisms of leptin resistance. **Cell. Mol. Life Sci** 62:642–652. 2005.

MUNZBERG, H. FLIER, JS. BJORBAEK, C. Region-specific leptin resistance within the hypothalamus of diet-induced-obese mice. **Endocrinology** 145:4880–89. 2004.

MURAKAMI, T. et al. A short form of leptin receptor performs signal transduction. **Biochem Biophys Res Commun** 231:26–9. 1997.

MUSSO, C. et al. The long-term effect of recombinant methionyl human leptin therapy on hyperandrogenism and menstrual function in female and pituitary function in male and female hypoleptinemic lipodystrophic patients. **Metabolism** 54(2):255–263. 2005.

NELSON, DL. COX, NM. **Lehninger Principles of Biochemistry**. 5 ed. 2008.

NISWENDER, KD. et al. Intracellular signaling. Key enzyme in leptin-induced anorexia. **Nature** 413:794–5. 2001.

O'MALLEY, D. et al. Leptin promotes rapid dynamic changes in hippocampal dendritic morphology. **Mol Cell Neurosci** 35:559-572. 2007.

OOMURA, Y. et al. Leptin facilitates learning and memory performance and enhances hippocampal CA1 long-term potentiation and CaMK II phosphorylation in rats. **Peptides** 27:2738-2749. 2006.

OTT, A. STOLK, RP. VAN HARKAMP, F. Diabetes mellitus and the risk of dementia: the Rotterdam study. **Neurology** 53:1937–1942. 1999.

PARTON, L.E. et al. Glucose sensing by POMC neurons regulates glucose homeostasis and is impaired in obesity. **Nature** 449: 228–232. 2007.

PAZ-FILHO, G. WONG, ML. LICINIO, J. Ten years of leptin replacement therapy. **Obes Rev** 12(501):e315–e323. 2011.

PEINO, R. et al. Cold exposure inhibits leptin secretion in vitro by a direct and non-specific action on adipose tissue. **Eur J Endocrinol** 142: 195 – 199. 2000.

PHILLIPS, MS. et al. Leptin receptor missense mutation in the fatty Zucker rat. **Nat Genet** 13:18 – 19. 1996.

POWER, DA. et al. Circulating leptin levels and weight loss in Alzheimer's disease patients. **Dement Geriatr Cogn Disord** 12:167–170. 2001.

RICCI, MR. FRIED, SK. MITTLEMAN, KD. Acute cold exposure decreases plasma leptin in women. **Metabolism** 49:421–423. 2000.

RÖJDMARK, S. CALISSENDORFF, J. & BRISMAR, K. Alcohol ingestion decreases both diurnal and nocturnal secretion of leptin in healthy individuals. **Clinical Endocrinology** 55:639-647. 2001.

ROTH, J. Diabetes and obesity. **Diab. Met. Rev.** 13: 1–2. 1998.

RUSSO, V.C. et al. Antiapoptotic effects of leptin in human neuroblastoma cells. **Endocrinology** 145 4103–4112. 2004.

SAHU, A. Minireview: A Hypothalamic Role in Energy Balance with Special Emphasis on Leptin. **Endocrinology** 145(6):2613–2620. 2004.

SALADIN, R. et al. Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration. **Nature** 377:527–529. 1995.

SARI, R. et al. Acute effect of exercise on plasma leptin level and insulin resistance in obese women with stable caloric intake. **Endocr Res** 32:9–17. 2007.

SCHWARTZ, MW. et al. Specificity of leptin action on elevated blood glucose levels and hypothalamic neuropeptide Y gene expression in ob/ob mice. **Diabetes** 45: 531–535. 1996.

SCHWATZ, MW. et al. Central nervous system control of food intake. **Nature** 404:661–671. 2000.

SENARIS, R et al. Synthesis of leptin in human placenta. **Endocrinology**. 138: 4501 – 4504. 1997.

SHANLEY, LJ. et al. Leptin inhibits rat hippocampal neurons via activation of large conductance calcium-activated K<sup>+</sup> channels. **Nat Neurosci** 5:299-300. 2002.

SHANLEY, LJ. IRVING, AJ. HARVEY, J. Leptin enhances NMDA receptor function and modulates hippocampal synaptic plasticity. **J Neurosci** 21:186. 2001.

SHIMABUKURO, M. et al. Protection against lipoapoptosis of beta cells through leptin-dependent maintenance of Bcl-2 expression. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.** 95 9558–9561. 1998.



SHINTANI, M. et al. Ghrelin, an endogenous growth hormone secretagogue, is a novel orexigenic peptide that antagonizes leptin action through the activation of hypothalamic neuropeptide Y/Y1 receptor pathway. **Diabetes** 50:227–232. 2001.

SIGNORE, A.P. et al. Leptin neuroprotection in the CNS: mechanisms and therapeutic potentials. **J. Neurochem.** 106 1977–1990. 2008.

SMITH-KIRWIN, S. M. et al. Leptin expression in human mammary epithelial cells and breast milk. **J Clin Endocrinol Metab** 83: 1810 – 1813. 1998.

SOUKAS, A. et al. Gene expression profile induced by leptin in white adipose tissue and liver. **Nat Gen** 23: 75. 1999.

SPICER, L. J. et al. The adipose obese gene product, leptin: evidence of direct inhibitory role in ovarian function. **Endocrinology.** 138: 3374 – 3379. 1997.

TAKAHASHI, KA. CONE, RD. Fasting induces a large, leptin-dependent increase in the intrinsic action potential frequency of orexigenic arcuate nucleus neuropeptide Y/Agouti-related protein neurons. **Endocrinology** 146:1043-7. 2005.

TAKAYA, K. et al. Molecular cloning of rat leptin receptor isoform complementary DNAs: identification of a missense mutation in Zucker fatty (fa/fa) rats. **Nat Genet** 14:130–1. 1996.

TANG, B.L. Leptin as a neuroprotective agent, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 368 181–185. 2008.

TANG-CHRISTENSEN, M. et al. The arcuate nucleus is pivotal in mediating the anorectic effects of centrally administered leptin. **Neuroreport** 10, 1183–1187. 1999.

TARTAGLIA, LA. et al. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. **Cell** 83:1263– 71. 1995.

TARTAGLIA, LA. The leptin receptor. **J Biol Chem** 272:6093– 6. 1997.

TODA, C. et al. Distinct effects of leptin and a melanocortin receptor agonist injected into medial hypothalamic nuclei on glucose uptake in peripheral tissues. **Diabetes** 58: 2757–2765. 2009.

TONG, Q. et al. Synaptic release of GABA by AgRP neurons is required for normal regulation of energy balance. **Nat. Neurosci.** 11: 998–1000. 2008.

TORJMAN, M. C. et al. Serum leptin during recovery following maximal incremental and prolonged exercise. **Int J Sports Med** 20:444–450, 1999.

TRAYHURN, P et al. Effects of fasting and refeeding on ob gene expression in white adipose tissue of lean and obese (ob/ob) mice. **FEBS Lett** 368: 488 – 490. 1995a.

TRAYHURN, P. et al. Acute cold-induced suppression of ob (obese) gene expression in white adipose tissue of mice; mediation by the sympathetic system. **Biochem J.** 311: 729–733. 1995b.

VAN HARMELEN, V. et al. Leptin secretion from subcutaneous and visceral adipose tissue in women. **Diabetes.** 47: 913 – 917. 1998.

WANG, J. et al. A nutrientsensing pathway regulates leptin gene expression in muscle and fat. **Nature** 393: 684 – 688. 1998.

WAYNER, MJ. et al. Orexin-A (Hypocretin-1) and leptin enhance LTP in the dentate gyrus of rats in vivo. **Peptides** 25:991-996. 2004.

WELTMAN, A. et al. Intensity of acute exercise does not affect serum leptin concentrations in young males. **Med Sci Sports Exerc** 32:1556–1561, 2000.

WENG, Z. et al. Leptin protects against 6-hydroxydopamine-induced dopaminergic cell death via mitogen-activated protein kinase signaling. **J. Biol. Chem.** 282 34479–34491. 2007.

WHITE, DW, Tartaglia LA. Evidence for ligand-independent homo-oligomerization of leptin receptor (OB-R) isoforms: a proposed mechanism permitting productive long-form signaling in the presence of excess short-form expression. **J Cell Biochem** 73:278– 88. 1999.

WHITE, DW, TARTAGLIA, LA. Leptin and OB-R: body weight regulation by a cytokine receptor. **Cytokine Growth Factor Rev** 7:303– 9. 1996.

WHITE, DW. et al. Leptin receptor (OB-R) signalling. **J Biol Chem** 272:4065– 71. 1997.

WHITE, JD. Neuropeptide Y: a central regulator of energy homeostasis. **Regul Pept** 49:93–107. 1993.

WILLIAMS, KW. & SMITH, BN. Rapid inhibition of neural excitability in the nucleus tractus solitarius by leptin: implications for ingestive behaviour. **J Physiol** 573:395–412. 2006.

WINOCUR, G. et al. Memory impairment in obese Zucker rats: an investigation of cognitive function in an animal model of insulin resistance and obesity. **Behav Neurosci** 119:1389–1395. 2005.

WU, Q. BOYLE, M.P. & PALMITER, R.D. Loss of GABAergic signaling by AgRP neurons to the parabrachial nucleus leads to starvation. *Cell* 137: 1225–1234. 2009.

WYSE, BM. DULIN, WE. The influence of age and dietary conditions on diabetes in the db mouse. **Diabetologia** 6: 268–273 1970.

XU, A.W. et al. Inactivation of signal transducer and activator of transcription 3 in proopiomelanocortin (Pomc) neurons causes decreased pomc expression, mild obesity, and defects in compensatory refeeding. **Endocrinology** 148: 72–80. 2007.

XU, L. et al. Leptin inhibits 4-aminopyridine- and pentylentetrazole- induced seizures and AMPAR-mediated synaptic transmission in rodents. **J. Clin. Invest.** 118 272–280. 2008.

ZHANG, E.E et al. Neuronal Shp2 tyrosine phosphatase controls energy balance and metabolism. **Proc Natl Acad Sci** 101:16064–9. 2004.

ZHANG, F. et al. Neuroprotective effects of leptin against ischemic injury induced by oxygen-glucose deprivation and transient cerebral ischemia. **Stroke** 38 2329–2336. 2007.

ZHANG, F. & CHEN, J. Leptin protects hippocampal CA1 neurons against ischemic injury. **J. Neurochem.** 107 578–587. 2008.

ZHANG, Y et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue, **Nature** 372:425–432. 1994.

ZIGMAN, JM & ELMQUIST, JK. Minireview: from anorexia to obesity—the yin and yang of body weight control. **Endocrinology** 144:3749–3756. 2003.