¹Institut za epidemiologiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

²Institut za histologiju i embriologiju „Aleksandar Đ. Kostić“, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

³Institut za patologiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

⁴Klinika za endokrinologiju, Klinički centar Srbije, Beograd

⁵Institut za fiziologiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Nišu

ULOGA LEPTINA U REGULACIJI

NEURONSKE AKTIVNOSTI POVEZANE SA

KONTROLOM ISHRANE

THE ROLE OF LEPTIN IN REGULATION OF

NEURONAL ACTIVITY ASSOCIATED WITH

CONTROL OF FOOD INTAKE

*Gorica Marić¹, Milica Labudović-Borović², Nada Tomanović³, Ivan Zaletel²,
Marko Trtica², Milan Lakočević⁴, Milan Ćirić⁵, Jelena Kostić², Nela Puškaš²*

Sažetak

Nutricija predstavlja skup kompleksnih i različitih formi ponašanja. Njegova regulacija se bazira na kontroli apetita, a jedan od važnih faktora u tom sistemu je leptin, hormon peptidne prirode, koji primarno nastaje u masnom tkivu. Nivo leptina u cirkulaciji zavisi od količine masnog tkiva u organizmu, kao i od: unosa hrane, pola, starosti, fizičke aktivnosti i unosa glukoze. Pored toga, sekrecija leptina prati cirkadijalni ritam. Svoje dejstvo ovaj hormon ostvaruje preko receptora za leptin, raspoređenih u centralnom nervnom sistemu i nekoliko drugih tkiva. Aktivacija receptora pokreće kaskadu nekoliko signalnih puteva, od kojih je JAK2/STAT3 najvažniji u regulaciji ishrane i energetske homeostaze. Leptin kontrolira energetski balans i telesnu masu primarno aktivirajući receptore za leptin u hipotalamusu, a arkuatno jedro hipotalamusa predstavlja glavno mesto dejstva leptina. U tom jedru leptin stimuliše aktivnost anoreksigenih POMC/CART neurona, a inhibira aktivnost oreksigenih AgRP/NPY neurona. Takođe, leptin reguliše ekspresiju (an)oreksigenih neuropeptida i u ventromedijalnom, paraventrikularnom jedru i lateralnom hipotalamusu.

Imajući ove činjenice u vidu sprovedene su studije koje su pokazale da bi leptin mogao imati primenu u terapiji gojaznosti jer njegova aplikacija značajno smanjuje telesnu masu kod životinja i osoba koje imaju deficit ovog hormona. To je dovelo do razvoja klinički primenljivog preparata leptina, koji je ušao u treću fazu kliničkog ispitivanja.

Ključne reči: oreksigeni neuroni, anoreksigeni neuroni, leptin, ishrana

Summary

The process of eating is a set of complex and different forms of behavior. Its regulation is based up on appetite control and one of the important factors in that system is leptin, a peptide hormone primarily synthesized in the adipose tissue. Leptin levels, besides the amount of fat tissue in the body, depend on: food intake, sex, age, physical activity and glucose uptake. In addition, leptin secretion displays circadian rhythm. The effects of this hormone are mediated via leptin receptors, which are distributed in the central nervous system and several other tissues. Activation of the receptors initiates a cascade of several signaling pathways, of which JAK2/STAT3 is the most important pathway in the process of feeding regulation and energy homeostasis. Leptin controls energy balance and body weight by activating leptin receptors in the hypothala-

mus, and the arcuate nucleus of the hypothalamus is the main site of its action. Within that nucleus, leptin stimulates the activity of anorexigenic POMC/CART neurons and inhibits the activity of orexigenic AgRP/NPY neurons. In addition, leptin regulates the expression of (an)orexigenic neuropeptides in the ventromedial, paraventricular nucleus and in the lateral hypothalamus.

Bearing these facts in mind, studies that were conducted have shown that leptin may have its place in the treatment of obesity, since its application leads to a significant reduction in body weight in animals and in people with a deficit of this hormone. This has led to the development of clinically appropriate product leptin, which has entered the third phase of clinical trial.

Key words: orexigenic neurons, anorexigenic neurons, leptin, feeding

Uvod

Nutricija predstavlja skup kompleksnih i različitih oblika ponašanja. Sam proces organizovan je u vidu obroka i nalazi se pod uticajem brojnih faktora. Regulacija nutricije zasnovana je na kontroli apetita i ima dve komponente: homeostatsku i hedonističku. Homeostatska kontrola ima za cilj održavanje energetske rezervi organizma, što se postiže stimulacijom unosa hrane, pri čemu se odmah aktivira i negativna povratna sprega, radi sprečavanja prekomernog unosa. Hedonistička kontrola apetita posredovana je sistemom nagrade, a signalni putevi uključeni

u taj vid kontrole aktiviraju se visoko ukusnom hranom, kao i nagonom za unošenjem hrane. Generalno, sistem je osetljiviji na gubitak nego na dobijanje u telesnoj masi, što može rezultirati razvojem gojaznosti.

Podaci Svetske zdravstvene organizacije [WHO] predviđaju da će 2015. godine u svetu biti 2,3 milijarde ljudi sa prekomernom telesnom masom ($BMI > 25 \text{ kg/m}^2$), kao i da će biti više od 700 miliona gojaznih ($BMI > 30 \text{ kg/m}^2$). U Srbiji, prema studiji koju je 2006. godine sproveo Institut za zaštitu zdravlja Srbije, svaka druga oso-

ba starosti preko 20 godina imala je $BMI > 25$, a 18,3% je bilo gojazno. Kod dece, u uzrastu od 7 do 19 godina u periodu od 2000. do 2006. godine zabeležen je porast prevalencije gojaznosti (dece sa prekomernom telesnom masom sa 8,2% na 11,6%, a gojaznih sa 4,4% na 6,4%) (16). S obzirom na povezanost gojaznosti sa povećanim rizikom za nastanak različitih oboljenja, mnoga istraživanja usmerena su na rešavanje ovog rastućeg zdravstvenog problema i pronalaženje adekvatnih terapijskih postupaka.

Regioni mozga uključeni u regulaciju ishrane

Hipotalamus

Prvobitno se smatralo da su u proces regulacije apetita uključena samo dva regiona hipotalamusa: lateralni hipotalamus kao "centar za glad" i ventromedijalni hipotalamus kao "centar za sitost". Međutim, kasnija, kompleksnija i preciznija istraživanja pokazala su da su u taj proces uključeni i drugi delovi hipotalamusa, kao i grupe neurona u moždanom stablu, korteksu i limbičkom sistemu (22-25). Tako je teorija "dvostrukog centra" zamenjena teorijom "neuronskih krugova povezanih sa ishranom".

Ključna komponenta tih neuronskih krugova je arkuatno jedro koje pripada ventromedijalnom regionu hipotalamusa. Zaduženo je za prijem humoralnih signala sa periferije. Ventromedijalni deo arkuatnog jedra predstavlja i cirkumventrikularni or-

gan, koji se karakteriše odsustvom hemato-encefalne barijere. Među mnogobrojnim grupama neurona u ovom jedru, za regulaciju ishrane najvažnije su dve: oreksigeni neuroni – oni koji koeksprimiraju neuropeptid Y (NPY) i peptid povezan sa agoutijem (engl. Agouti-related protein, AgRP) i anoreksigeni neuroni – oni koji koeksprimiraju proopiomelanokortin (POMC) i peptid čija transkripcija je regulisana kokainom i amfetaminom (engl. cocaine- and amphetamine-regulated transcript peptide, CART). Signali sa periferije dovode do promena u aktivnosti ove dve grupe neurona što za posledicu ima promene u ponašanju vezanom za ishranu i promene u potrošnji energije (5).

Amigdaloidni kompleks

Amigdaloidni kompleks (AK) je multijedarna siva masa lokalizovana u

temporalnom režnju i bogato povezana sa drugim strukturama centralnog nervnog sistema. Ima značajnu ulogu u kontroli specijes-specifičnih formi ponašanja kroz modulaciju endokrine funkcije, autonomnih efektorskih mehanizama i kompleksnih mehanizama ponašanja, uključujući i ponašanje povezano sa ishranom. Posebno su značajne veze sa dorzalnim vagalnim kompleksom preko koga AK prima informacije sa periferije, kao i veze sa hipotalamusom i kortikalnim asocijativnim zonama (2). Neuroni AK eksprimiraju više neuropeptida i receptora, od kojih su pojedini uključeni i u kontrolu nutricije (18,20-22).

Pretpostavlja se da je uloga AK u ovom procesu regulatorna i da podrazumeva modulaciju hipotalamusnih mehanizama sitosti i gladi. Takođe, pokazano je da lezije centralnog i kor-

tikomedijalnog jedra AK dovode do afagije i adipsije, dok lezije bazolateralne grupe jedara dovode do suprotnih efekata – hiperfagije i hiperdipsije (2).

Dorzalni vagalni kompleks

Dorzalni vagalni kompleks (DVK) se nalazi u moždanom stablu, a čine ga tri strukture: nucleus tractus solitarii (NTS), area postrema (AP) i nucleus dorsalis nervi vagi (DVN).

Veliki broj informacija poreklom iz digestivnog trakta dolazi u NTS, zbog čega ova struktura predstavlja glavni relejni centar u moždanom stablu.

Signali dolaze uglavnom aferentnim senzornim vlaknima vagusa. Studije su pokazale da transekcija tih puteva dovodi do povećanja količine obroka i dužine trajanja obroka, što jasno potvrđuje činjenicu da vlakna vagusa imaju ključnu ulogu u prenošenju signala sitosti (26). Takođe, u NTS-u su registrovani i neuroni osetljivi na promenu nivoa glukoze u krvi. Ovo jedro, recipročno povezano sa hipotalamusom, šalje svoje projekcije do amigdaloidnog kompleksa i veoma je bogato u sadržaju neurotransmitera i neuropeptida sa (an)oreksig-

nim efektima (19,23-25). Osim uloge u prenosu informacija sa periferije do viših nervnih struktura, NTS poseduje i sposobnost integracije prispelih signala i delimične obrade.

Area postrema predstavlja još jedan cirkumventrikularni organ koji omogućava direktan prijem signala iz cirkulišuće krvi, a u procesu regulacije ishrane važnu ulogu ima i DVN čiji neuroni ekspiriraju receptore za oreksin, insulin i leptin (4,17).

Leptin

Gen za gojaznost kod ljudi, kao i njegov produkt, leptin, otkrili su i opisali Zhang i saradnici 1994. godine (30). Ovaj gen smešten je na hromozomu broj 7 i sastoji se iz tri egzona i dva introna, dok je sam hormon polipeptid koji se sastoji iz 167 aminokiselina, raspoređenih tako da daju izgled četvorostruke spirale. Sam naziv leptin potiče od grčke reči "*leptos*" što znači tanak. Leptin primarno nastaje u masnom tkivu, ali se stvara u malim količinama i u želucu, epitelu mlečnih žlezda, jajnicima, koštanoj srži, placenti, srcu, kao i u limfatičnom tkivu.

Sekrecija leptina osciluje i prati cirkadijalni ritam, sa najvišim nivoom između ponoći i ranog jutra, a najnižim u ranim popodnevrim satima (13). Rezultati merenja ovih vrednosti pokazuju da koncentracija u krvi tokom noći može biti i do 75,6% viša u odnosu na dnevne vrednosti (13). Oscilacije u sekreciji leptina su slične kod gojaznih i mršavih ljudi, ali su amplituda sekrecije kod gojaznih više.

Koncentracija leptina pokazuje stanje energije uskladištene u masnom tkivu. Nivoi leptina u krvi direktno su proporcionalni količini masnog tkiva i variraju sa akutnim promenama u kalorijskom unosu. Ovaj sistem je posebno osetljiv u uslovima gladovanja. Studije su pokazale da nakon samo 2 do 3 dana gladovanja, nivo leptina pada na 40 odnosno 10% od osnovnog nivoa (27).

Leptin ostvaruje svoje dejstvo preko receptora za leptin, raspoređenih širom centralnog nervnog sistema i nekoliko drugih tkiva. Gen za ovaj receptor smešten je na hromozomu broj 1, a sastoji se iz 18 egzona i 17 introna i kodira protein od 1162 aminokiseline. Do sada je poznato najmanje 6 izoformi receptora za leptin. Sve izoforme imaju iste ekstracelularne domene, a razlikuju se po intracelularnim, koji variraju u dužini sekvence. Kratke izoforme učestvuju u prolasku leptina kroz krvno-moždanu barijeru. Duga izoforma leptinskog receptora ObRb je primarno odgovorna za prenošenje informacija u centrima koji utiču na regulaciju ishrane (11). Ovaj receptor eksprimiran je u centralnom nervnom sistemu, a posebno u hipotalamusu, gde ima važnu ulogu u regulaciji energetske homeostaze i neuroendokrinih funkcija. Pokazano je da kod miševa disfunkcija gena za ovaj receptor dovodi do nastanka gojaznosti i metaboličkog sindroma. Takođe, receptor za leptin eksprimiran je i u drugim tkivima kao što su krvni sudovi, želudac i placenta.

Leptin se, nakon sekrecije u masnom tkivu, oslobađa u cirkulaciju i prolazi krvno-moždanu barijeru, prenoseći informaciju o stanju energetskih rezervi organizma. Porast koncentracije leptina rezultira smanjenim unosom hrane i porastom energetske potrošnje, i obrnuto. Leptin ima ulogu u održavanju energetske ho-

meostaze prevashodno u stanjima energetskeg deficita jer ima sposobnost vrlo precizne kontrole apetita i energetske potrošnje.

Arkuatno jedro hipotalamusa predstavlja glavno mesto dejstva leptina. U arkuatnom jedru leptin deluje na 2 glavne grupe neurona preko pomenutih receptora. Aktivacija ObRb receptora pokreće kaskadu nekoliko signalnih puteva. JAK2/STAT3 signalni put ima najvažniju ulogu u energetske homeostazi i verovatno u neuroendokrinnoj regulaciji. Leptin se vezuje za svoj receptor (ObRb) i aktivira fosforilaciju tirozin-hidroksilaze 2 iz Janus familije (JAK2). JAK2 zatim fosforiliše ostale tirozinske rezidue koje predstavljaju mesta za vezivanje intracelularnih signalnih molekula. Protein signal transducer i aktivator transkripcije 3 (STAT-3) predstavlja supstrat za JAK2 i on se vezuje za fosforilisanu reziduu Tyr¹¹³⁸. Zatim STAT-3 podleže dimerizaciji i translocira se u jedro gde funkcioniše kao promotor transkripcije gena (6). Fosforilacija i aktivacija STAT3 od strane leptina dovodi do indukcije transkripcije POMC, jednog od anoreksigenih neuropeptida u arkuatnom jedru (7). Leptin direktno stimuliše neurone da sekreciju POMC, prekursorski protein, čijim cepanjem nastaje α -melanocitni stimulirajući hormon (15). α -MSH je anoreksigeni neuropeptid koji smanjuje unos hrane aktivacijom melanokortin-4 (MC4R) i melanokortin-3

(MC3R) receptora eksprimiranim na neuronima drugog reda. Istraživanja su pokazala i da miševi sa delecijom neuron specifičnog STAT3 imaju smanjenu ekspresiju POMC u arkuatnom jedru, kao i razvijenu hiperfagiju, gojaznost i dijabetes (6).

Leptin, takođe, stimuliše anoreksigene neurone da sekretuju CART, koji takođe suprimira apetit. Istovremeno, aktivacija JAK2/STAT3 signalnog puta, dovodi do supresije oreksigenih AgRP/NPY neurona u arkuatnom jedru. Istraživanja na miševima su pokazala da delecija STAT3 u AgRP/NPY neuronima dovodi do hiperleptinemije, hiperfagije i umerenog povećanja telesne težine (8). Kod ovih miševa je zabeležena povećana ekspresija mRNA za NPY, dok je nivo mRNA za AgRP nepromenjen. Ova razlika u ekspresiji mRNA za NPY i AgRP ukazuje na mogući značaj drugih signalnih puteva u ostvarivanju efekta leptina na AgRP/NPY neurone. Inače, AgRP antagonizuje efekte α -MSH/MC4R

signalnog puta i inhibira endogenu aktivnost MC4R, dok NPY efikasno pojačava apetit i redukuje energetske potrošnje. Pored JAK2/STAT3 leptin svoje efekte ostvaruje i preko drugih signalnih puteva (šema 1).

In vitro i *in vivo* studije navode na zaključak da leptin aktivira fosfoinozitol 3-kinazni (PI3K) signalni put u mnogim ćelijama i tkivima miša, uključujući miocite (3), hepatocite (28) i hipotalamus (14). Aktivacija PI3K u hipotalamusu odgovorna je za anoreksigene efekte leptina. Po uzoru na STAT3 signalni put, PI3K aktivira POMC neurone aktivirajući ATP-zavisne K^+ kanale i voltažno zavisne Ca^{2+} kanale. Aktivacija PI3K signalnog puta u hipotalamusu ima uticaja na energetske homeostazu i neuroendokrinu funkciju, dok njegova aktivacija na periferiji posreduje u delovanju leptina na insulinsku rezistenciju.

Mitogen-aktivirajuće protein kinaze (MAPK) predstavljaju grupu kinaza

koje kontrolišu veliki broj ćelijskih procesa, uključujući diferencijaciju, proliferaciju i apoptozu, i obuhvataju brojne signalne molekule kao što su ekstracelularne signal-vezane kinaze 1 i 2 (ERK1/2), zatim c-jun amino-terminal kinaze (JNK) i p38. MAPK mogu biti aktivirane leptinom, a kod gojaznih pacova sa deficijencijom leptinskog receptora dolazi do smanjenja ili potpunog odsustva aktivacije MAPK. ERK1/2 je glavna MAPK koja posreduje u centralnim efektima leptina i ima ključnu ulogu u regulaciji unosa hrane, telesne mase i energetske potrošnje. Pri primeni leptina *in vivo*, sistemski i centralno, odgovor ERK1/2 se zapaža u POMC neuronima arkuatnog jedra. Inhibicija ERK1/2 sprečava smanjenje unosa hrane i telesne mase koji nastaju nakon primene leptina. Pored toga, pokazano je i da inhibicija ERK1/2 sprečava leptinom indukovani porast simpatičke aktivnosti u mrkom masnom tkivu. Ostale kinaze iz MAPK familije imaju uglavnom periferne efekte (6).

Slika 1. Signalni putevi preko kojih leptin ostvaruje efekte na strukture nervnog sistema uključene u regulaciju apetita i ključni neuropeptidi čiju ekspresiju moduliraju ti signalni putevi.

ObRa, ObRb – dve izoforme leptinskih receptora; DVK – dorzalni vagalni kompleks; NTS – nucleus tractus solitarius; DVN – nucleus dorsalis nervi vagi; AP – area postrema; ARC – arkuatno jedro; POMC – proopiomelanokortin; CART – peptid čija je transkripciju regulišu kokain i amfetamin; AgRP – peptid povezan sa agoutijem; NPY – neuropeptid Y; MCH – melanin-koncentrišući hormon; SF-1 – steroidogeni faktor 1; BDNF – neurotrofni faktor poreklom iz mozga; + stimulativni efekat; – inhibicioni efekat

Arkuatno jedro nije jedini deo hipotalamusa preko koga je leptin uključen u regulaciju apetita. ObRb je široko rasprostranjen u centralnom nervnom sistemu. U arkuatnom jedru se nalazi tek 15 – 20% neurona koji ekspresiraju ovaj receptor (12).

Vezujući se za svoje receptore, leptin utiče na ekspresiju brojnih oreksigenih i anoreksigenih neuropeptida. Oreksigeni peptidi, čiji nivoi su pod uticajem leptina, pored NPY i AgRP uključuju i melanin koncentrišući hormon (MCH), galanin, oreksin i glukagonu-sličan peptid-1 (GLP-1). Anoreksigeni hormoni, koji su pod uticajem leptina uključuju, pored POMC, i CART, kortikotropin oslobađajući hormon (CRH) i neurotensin.

Ventromedijalno jedro hipotalamusa je drugo ključno mesto leptinskog dejstva. Ovde leptin stimuliše sekreciju dva neuropeptida – steroidogenog faktora-1 (SF-1) i neurotrofnog faktora porekla mozga (BDNF). SF-1 predstavlja transkripcioni faktor neophodan za razvoj ventromedijalnog hipotalamusa, dok BDNF utiče na razvoj mozga i učestvuje u regulaciji unosa hrane (1). Paraventricularno jedro, takođe, sadrži ObRb i prima brojne projekcije neurona iz arkuatnog jedra koji imaju udela u regulaciji unosa hrane i telesne mase. Osim toga, pokazano je da leptin reguliše i ekspresiju protireotropin-oslobađajućeg hormona (proTRH), kao i kortikotropin-oslobađajućeg hormona. Moguće je da leptin reguliše energetska homeostazu putem uticaja na tireoidnu i adrenalnu osovину ovim mehanizmima. Lateralni hipotalamus, označen kao centar za glad, sadrži neurone koji

ekspresiraju oreksigene peptide, melanin-koncentrišući hormon (MCH) i oreksin, koji su pod uticajem leptina (1). Leptin smanjuje ekspresiju MCH gena *in vitro*, dok intraventricularna primena leptina pre injekcije MCH dovodi do umanjenog povećanja konzumacije hrane. Pored toga, leptin inhibiše ekspresiju oreksina hiperpolarizacijom i smanjenjem praga za nastanak akcionog potencijala u neuronima koji sekretuju ovaj neuropeptid (29).

ObRb je široko rasprostranjen u dorsalnom vagalnom kompleksu i drugim strukturama u kaudalnom delu moždanog stabla. Kod miševa je pokazano da periferna administracija leptina dovodi do aktivacije STAT3 signalnog puta u neuronima NTS-a i motornom jedru nervusa vagusa. Druge studije na miševima pokazale su da direktna aplikacija leptina u dorsalni vagalni kompleks značajno smanjuje unos hrane i telesnu masu (9). Na nivou NTS-a leptin deluje sinergistički sa signalima sitosti sa periferije uključujući GLP-1 i holecistokinin (CCK), sa kojima zajedno dovodi do osećaja sitosti kao odgovora na unos hrane.

Postoji više faktora koji regulišu nivo leptina u cirkulaciji. Najznačajniji su: energetska depoi, unos hrane, pol, starost, fizička aktivnost i unos glukoze. Sa porastom energetske depoa raste i nivo leptina, zajedno sa povećanjem BMI. Nivo cirkulišućeg leptina povećava i unos hrane, odnosno povećava nivo glukoze. Kratkotrajno (12 h) ili dugotrajno (2-8 nedelja) prejedanje rezultira pojačanom ekspresijom leptina u masnom tkivu kod zdravih osoba. Pored toga, nivo ovog hormona u cirkulaciji pokazuje dnevne varijacije.

Što se tiče pola, utvrđeno je da žene imaju više nivoa leptina u odnosu na muškarce, iako taj nivo izrazito opada nakon menopauze (10). Ova razlika ne zavisi od BMI, već tu ulogu igraju polni hormoni, količina masnog tkiva, kao i njegova distribucija u organizmu. Kod žena postoji tendencija nakupljanja masnog tkiva na periferiji, dok muškarce karakteriše androidni, odnosno abdominalni tip distribucije masnog tkiva. Potkožno masno tkivo ekspresira više leptina, u poređenju sa omentumom, što delimično može objasniti razlike u koncentraciji leptina prema polu. Sa starošću, nivo leptina opada. Fizička aktivnost smanjuje količinu leptina u krvi.

Osim uloge u regulaciji ishrane, utvrđeno je da leptin učestvuje i u započinjanju puberteta, imunskom i inflamatornom odgovoru, hematopoezi, angiogenezi, formiranju kostiju kao i zarastanju rana.

Studije ukazuju na moguću primenu leptina u lečenju gojaznosti. Rezultati eksperimentalnih istraživanja pokazali su da aplikacija leptina dovodi do značajnog smanjenja telesne mase kod životinja i osoba koje imaju deficit tog hormona. To je dovelo do razvoja klinički primenljivog preparata leptina, koji je ušao u treću fazu kliničkog ispitivanja.

Napomena

Nosilac rada dr Nela Puškaš, Institut za histologiju i embriologiju „Aleksandar Đ. Kostić“, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Rad je finansiran sa projekta br. 175061 Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

Literatura

- Abizaid A, Gao Q, Horvath TL. Thoughts for food: brain mechanisms and peripheral energy balance. *Neuron*. 2006;51(6):691–702.
- Berthoud H-R. Multiple neural systems controlling food intake and body weight. *Neurosci Biobehav Rev*. 2002;26(4):393–428.
- Berti L, Kellerer M, et al. Leptin stimulates glucose transport and glycogen synthesis in C2C12 myotubes: evidence for a PI3-kinase mediated effect. *Diabetologia*. 1997;40(5):606–9.
- Buyse M, Ovesjö ML, Goïot H, Guilmeau S, Pérani G, Moizo L, et al. Expression and regulation of leptin receptor proteins in afferent and efferent neurons of the vagus nerve. *Eur J Neurosci*. 2001;14(1):64–72.
- Chaudhri OB, Field BCT, Bloom SR. Gastrointestinal satiety signals. *Int J Obes (Lond)*. 2008;32(7):S28–31.
- Dardeno TA, Chou SH, Moon HS, Chamberland JP, Fiorenza CG, Mantzoros CS. Leptin in Human Physiology and Therapeutics *Front Neuroendocrinol*. 2010; 31(3): 377–393.
- Ernst MB, Wunderlich CM, Hess S, Paehler M, Mesaros A, Koralov SB, et al. Enhanced Stat3 activation in POMC neurons provokes negative feedback inhibition of leptin and insulin signaling in obesity. *J Neurosci*. 2009;29(37):11582–93.
- Gong L, Yao F, et al. Signal transducer and activator of transcription-3 is required in hypothalamic agouti-related protein/neuropeptide Y neurons for normal energy homeostasis. *Endocrinology*. 2008;149(7):3346–54.
- Grill HJ, Schwartz MW, Kaplan JM, Foxhall JS, Breininger J, Baskin DG. Evidence that the caudal brainstem is a target for the inhibitory effect of leptin on food intake. *Endocrinology*. 2002;143(1):239–46.
- Kiess W, Petzold S, Töpfer M, Garten A, Blüher S, Kapellen T, et al. Adipocytes and adipose tissue. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2008;22(1):135–53.
- Lee GH, Proenca R, Montez JM, Carroll KM, Darvishzadeh JG, Lee JJ, et al. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature*. 1996;379(6566):632–5.
- Leshan RL, Björnholm M, Münzberg H, Myers MG Jr. Leptin receptor signaling and action in the central nervous system. *Obesity (Silver Spring)*. 2006;14 Suppl 5:208S–212S.
- Licinio J, Mantzoros C, Negrão AB, Cizza G, Wong ML, Bongiorno PB, et al. Human leptin levels are pulsatile and inversely related to pituitary-adrenal function. *Nat Med*. 1997;3(5):575–9.
- Morris DL, Rui L. Recent advances in understanding leptin signaling and leptin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009;297(6):E1247–59.
- Morrison CD. Leptin signaling in brain: A link between nutrition and cognition? *Biochim Biophys Acta*. 2009;1792(5):401–8.
- National Health survey Serbia – Key finding. Belgrade: Ministry of Health Republic of Serbia; 2006.
- Paranjape S, Vavaia K, Kale A, Briski K. Role of dorsal vagal motor nucleus orexin-receptor-1 in glycemic responses to acute versus repeated insulin administration. *Neuropeptides*. 2007;41(2):111–6.
- Puškaš L, Puškaš N, Todorović V, Labudović-Borović M, Đulejić V. Distribution of CB1 cannabinoid receptors in the rat amygdaloid complex. *Acta Veterinaria*. 2004; 54: 369–78.
- Puskas N, Papp RS, Gallatz K, Palkovits M. Interactions between orexin-immunoreactive fibers and adrenaline or noradrenaline-expressing neurons of the lower brainstem in rats and mice. *Peptides*. 2010; 31: 1589–97.
- Puškaš N, Puškaš L, Draganić-Gajić S, Đulejić V, Babić Z, Bajčetić M. Morphology, size and distribution of Corticotropin Releasing Factor (CRF) immunoreactive neurons in the central nucleus of the rat amygdaloid complex. *Acta Veterinaria*. 2006; 56: 449–56.
- Puškaš N, Puškaš L, Malobabić S, Đulejić V, Todorović V. Localisation and morphology of Cocaine- and Amphetamine Regulated Transcript (CART) peptide immunoreactive neurons in rat amygdala. *Acta Veterinaria*. 2005; 55: 423–34.
- Puskas N. Cytohistological, morphometric and immunohistochemical characteristic of the amygdaloid complex. Master degree, Faculty of Medicine, University of Belgrade, 2002.
- Puskas N. Effect of subdiaphragmatic vagotomy on fasting- and refeeding-elicited neuronal activity in the dorsal vagal complex of rats with and without monosodium glutamate pretreatment. Doctoral dissertation, Faculty of Medicine, University of Belgrade, 2010.
- Renner E, Puskas N, Dobolyi A, Palkovits M. Glucagon-like peptide-1 of brainstem origin activates dorsomedial hypothalamic neurons in satiated rats. *Peptides*. 2012;35(1):14–22.
- Renner E, Szabó-Meltzer KI, Puskas N, Tóth ZE, Dobolyi A, Palkovits M. Activation of neurons in the hypothalamic dorsomedial nucleus via hypothalamic projections of the nucleus of the solitary tract following refeeding of fasted rats. *Eur J Neurosci*. 2010;31(2):302–14.
- Schwartz GJ. The role of gastrointestinal vagal afferents in the control of food intake: current prospects. *Nutrition*. 2000;16(10):866–73.
- Sinha MK, Ohannesian JP, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Magosin S, et al. Nocturnal rise of leptin in lean, obese, and non-insulin-dependent diabetes mellitus subjects. *J Clin Invest*. 1996;97(5):1344–7.
- Wang Y, Kuropatwinski KK, et al. Leptin receptor action in hepatic cells. *J Biol Chem*. 1997;272(26):16216–23.
- Yamanaka A, Beuckmann CT, Willie JT, Hara J, Tsujino N, Mieda M, et al. Hypothalamic orexin neurons regulate arousal according to energy balance in mice. *Neuron*. 2003;38(5):701–13.
- Zhang Y, Proenca R, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;372(6505):425–32.