

Pregledni prispevek/Review article

LEPTIN IN DEBELOST – NEVROENDOKRINI, PRESNOVNI IN ATEROGENI UČINKI LEPTINA

LEPTIN AND OBESITY – NEUROENDOCRINE, METABOLIC AND ATHEROGENIC EFFECTS OF LEPTIN

Mišo Šabovič, Alenka Mavri

Klinični oddelek za žilne bolezni, Interna klinika, Klinični center, Riharjeva 24, 1000 Ljubljana

Prispelo 2002-09-05, sprejeto 2002-11-12; ZDRAV VESTN 2003; 72: 19-23

Ključne besede: leptin; telesna teža; debelost; ateroskleroza; zdravljenje

Izvleček – Izhodišča. *Leptin je hormon, ki ga izločajo maščobne celice. Leptin in leptinska rezistenca (neodzivnost na leptin) imata pomembno vlogo v patogenezi debelosti. Leptin aktivira specifične receptorje v hipotalamusu, ki prek izražanja več neuropeptidov uravnavajo apetit in porabo energije v telesu. Leptinska rezistenca, ki je pri debelih ljudeh pogosta, zmanjša učinek leptina. Okvara, ki povzroči leptinsko rezistenco, še ni pojasnjena; možno je, da gre za receptorsko ali poreceptorsko motnjo, inaktivacijo leptina z vezavnimi beljakovinami ali ovirano prestopanje leptina iz krvi v likvor. Začetne raziskave (klinični fazi I in II) zdravljenja z rekombinantnim leptinom pri ljudeh so pokazale, da je zdravljenje varno. Raziskave učinkovitosti (klinična faza III) še potekajo, prvi rezultati pa kažejo, da je leptin zmerno učinkovit pri zdravljenju debelosti.*

Zaključki. *Poleg vpliva na debelost ima leptin tudi presnovne in neuroendokrine učinke. Vpleta se v metabolizem glukoze in izločanje inzulina ter patogenezo polimetaboličnega sindroma in verjetno tudi sladkorne bolezni, vpliva na razvoj arterijske hipertenzije in nekatere aterotrombotične procese. Leptin ima pomembno vlogo tudi v uravnavanju hormonov nadledvične žleze, ščitničnih hormonov, spolnih hormonov in rastnega hormona. Pojasnitev mehanizma leptinske rezistence bo verjetno pomembno doprinesla k razumevanju patogeneze debelosti in z debelostjo povezanih bolezenskih stanj kot so polimetabolični sindrom, sladkorna bolezen, arterijska hipertenzija in aterotromboza.*

Uvod

Razširjenost debelosti v razvitih deželah v zadnjih desetletjih strmo narašča (1, 2). Debelost je povezana z razvojem sladkorne bolezni, arterijske hipertenzije, bolezni srca in ožilja ter rakavih bolezni in zato izrazito vpliva na zbolewnost in umrljivost (2, 3). Patogeneza in mehanizmi, vpleteni v nastanek in vzdrževanje debelosti, niso popolnoma razjasnjeni. Odkritje leptina, do katerega je prišlo sredi devetdesetih let, je pomenilo prelomnico v razumevanju patogeneze debelosti (4). Beseda leptin izhaja iz grške besede »leptos«, ki pomeni vitek. Po optimističnih napovedih je bilo pričakovati, da bo leptin zelo učinkovito zdravilo za zdravljenje debelosti, ven-

Key words: leptin; body weight; obesity; atherosclerosis; treatment

Abstract – Background. *Leptin is an adipocyte-derived hormone that was recently discovered. Leptin and leptin resistance play an important role in the pathogenesis of obesity. Leptin acts by binding to specific receptors in the hypothalamus to alter the expression of several neuropeptides that regulate food intake and energy expenditure. As commonly found, obese persons have leptin resistance and consequently attenuated effects of leptin. Mechanism underlying leptin resistance has not been explained yet: it might be the result of a receptor or post receptor defect, impaired transport of leptin through cerebrovascular barrier or inactivation of leptin by binding proteins. Phase I and II clinical trials proved that recombinant leptin administration to humans is safe. First results of the current phase III clinical trials demonstrated that leptin is moderately effective in the treatment of obesity.*

Conclusions. *Beside anti-obesity effect, leptin can have important metabolic and neuroendocrine effects. It is involved in glucose metabolism and insulin secretion, pathogenesis of polymetabolic syndrome, diabetes and arterial hypertension. In addition it affects some processes of atherothrombosis. It interacts with and significantly influences hypothalamic-pituitary-adrenal, thyroid, sexual glands and growth hormone axes. Explaining the mechanism of leptin resistance could be important for understanding the pathogenesis of obesity and associated pathologic states as polymetabolic syndrome, diabetes, arterial hypertension and atherothrombosis.*

dar zaenkrat raziskave tega še niso potrdile. V zadnjih letih se kopičijo dokazi, da je leptin pomemben ne le v patogenezi debelosti, temveč je vpleten tudi v patogenezo številnih drugih bolezni.

Zdi se, da je leptin zelo pomemben za razvoj ateroskleroze pri debelih ljudeh. Leptin vpliva na razvoj polimetaboličnega sindroma, arterijske hipertenzije in verjetno tudi sladkorne bolezni. Ugotavljajo, da leptin deluje tudi na nekatere dejavnike, ki so povezani z razvojem ateroskleroze in trombotičnih zapletov (endotelijska disfunkcija, agregacija trombocitov, aktivacija makrofagov). Pomen leptina pa je še veliko širši, saj se vpleta tudi v hipotalamo-hipofizno-nadledvično os, ščitnično os in os spolnih in rastnih hormonov.

Sinteza leptina in uravnavanje ravni leptina v serumu

Leptin je beljakovina, ki jo sestavlja 167 aminokislin. Glede na kristalno strukturo sodi v družino citokinov (5). Gen za leptin (gen »ob«) je že identificiran. Ekspresija gena *ob* je največja v maščobnih celicah, v manjši meri pa tudi v celicah želodca, posteljice in dojke (6, 7). V plazmi je leptin prisoten prost ali vezan na vezavne beljakovine za leptin. Raven leptina v plazmi je sorazmerna s količino maščobe v telesu in indeksom telesne teže (8, 9). Plazemska raven leptina je odvisna ne le od količine maščobe, temveč tudi od energetske bilance: ob hujšanju upade, ob čezmernem prehranjevanju pa naraste (10, 11). Na raven leptina vpliva tudi sestava hrane (makro in mikro sestavine, še posebej cink) in različni hormoni: inzulin in glukokortikoidi zvečajo, hiperadrenergično stanje (povzročeno tudi s kajenjem) pa zmanjša raven leptina (12–15). Raven leptina zvečajo tudi citokini: dejavnik tumorske nekroze- α (TNF- α), interlevkin-1 in interlevkin-6 (16–18). Medtem ko estrogeni spodbujajo sintezo leptina, ima testosteron nasproten učinek (19, 20). Raven leptina v serumu kaže cirkadiani in ultradiani ritem z največjimi vrednostmi v nočnih urah. Mehanizem in vloga cirkadianega in ultradianega ritma še nista pojasnjena (21, 22). Kateri dejavnik naj bi uravnaval ritmično sproščanje leptina iz maščobnega tkiva, ni znano.

Delovanje leptina na molekularni ravni

Molekularni mehanizmi, ki uravnavajo izločanje leptina, še niso dokončno proučeni. Promotor gena za leptin je pozitivno uravnan z več transkripcijskimi dejavniki, ki so pomembni za diferenciacijo maščobnih celic. Raziskave in identifikacija teh dejavnikov intenzivno potekajo. Leptin aktivira specifične »dolge« in »kratke« leptinske receptorje, ki se nahajajo predvsem v možganih, v manjši meri pa so prisotni tudi v pljučih, ledvicah, želodcu, jetrih, trebušni slinavki, nadledvičnih žlezah, jajčnikih, matičnih krvotvornih celicah, skeletnih mišicah in osteoblastih (23). V plazmi so prisotni topni leptinski receptorji, ki delujejo kot vezavne beljakovine za leptin. (23).

V možganih so receptorji razporejeni na več področjih: v hipotalamusu, malih možganih, hipokampusu, talamusu, horioidnem pletežu in endoteliju možganskih kapilar. Leptinski receptorji spadajo v skupino citokinskih receptorjev. Aktivacija leptinskih receptorjev v možganih aktivira prenosnik signalov in aktivator transkripcije JAK (Janus Kinase) (24). Prek aktivacije leptinskih receptorjev v možganih pride do izražanja številnih hipotalamičnih neuropeptidov. Najbolj proučen je neuropeptid Y (25). Zmanjšanje izločanja neuropeptida Y, ki ga povzroča aktivacija leptinskih receptorjev, zmanjša apetit in zveča adrenergično aktivnost ter povzroči večjo porabo energije. Neuropeptid Y vpliva tudi na nekatere povezave v osi hipotalamus-hipofiza-periferne žleze. Dokazali so, da vpliva na izločanje hipotalamičnih sproščevalnih hormonov (TRH, CRF, GnRH) in ravnega hormona (26, 27). Leptin v hipotalamusu deluje tudi na melanocite spodbujajoči hormon in njegov kompetitivni zaviralec, ki prav tako vplivata na apetit (28, 29). Pomembno je poudariti, da je delovanje leptina na apetit in energetsko homeostazo neodvisno od serotonina in serotoninskih receptorjev (29).

Receptorji v endoteliju možganskih kapilar in horioidnem pletežu omogočajo transport leptina iz krvi v likvor. Zelo pomembna je ugotovitev, da je sposobnost prenosa leptina iz krvi v likvor omejena (30). Receptorji v ledvicah vplivajo na izločanje leptina iz telesa (31). Pomen aktivacije leptinskih receptorjev, ki so prisotni v pljučih, želodcu, jetrih, trebušni slinavki, nadledvičnih žlezah, jajčnikih, matičnih krvotvornih celicah, skeletnih mišicah in osteoblastih, pa še ni popolnoma pojasnjen.

Presnovni in neuroendokrini učinki leptina

Leptin spodbuja receptorje v centru za lakoto in povzroči občutek sitosti. Z aktivacijo adrenergičnega sistema, delno neposredno, delno posredno prek aktivacije ščitničnih hormonov pa poveča porabo energije v bazalnih pogojih. Zdi se, da je za vzdrževanje normalne telesne teže pomembnejši učinek na center za lakoto (32, 33).

Leptin ima tudi številne neuroendokrine učinke (34–37):

- Hipotalamo-hipofizno-nadledvična os: Leptin prek receptorjev v hipotalamusu, kot tudi periferno prek receptorjev v nadledvični žlezi zmanjša izločanje kortizola. Raven kortizola vpliva na apetit in telesno težo in je pri debelih ljudeh pogosto zvečana. Povečana koncentracija kortizola pa spodbuja izločanje leptina, kar verjetno predstavlja negativni povratni mehanizem, ki je lahko pri debelih ljudeh okvarjen.
- Hipotalamo-hipofizno-ščitnična os: Leptin spodbuja delovanje osi in poveča koncentracijo ščitničnih hormonov. Povečana raven ščitničnih hormonov poveča bazalno presnovo in porabo energije, hkrati pa zmanjša izločanje leptina, kar prav tako predstavlja negativni povratni mehanizem med leptinom in drugimi hormoni.
- Hipotalamo-hipofizno-gonadna os: Leptin spodbuja delovanje osi. Ta učinek je posebej izrazit pri ženskah, pri katerih spodbuja izločanje hipofiznih gonadotropnih hormonov (FSH in LH). Leptin je nujen za ustrezn spolni razvoj, zanositev in nosečnost ter laktacijo. Učinek leptina na moške spolne hormone je manjši. Tudi estrogeni in testosteron vplivajo na izražanje leptina: medtem ko ga estrogeni zvečajo, ima testosteron obratni učinek.

Leptin in stradanje, anoreksija nervoza in kaheksija

Leptin ima pomembno vlogo pri prilagajanju na stradanje. Zmanjšana koncentracija leptina ob stradanju povzroči zmanjšano porabo energije z oviranjem od tiroksina odvisne termogeneze, oviranjem mobilizacije energetskih zalog s povečano sekrecijo glukokortikoidov ter oviranjem delovanja gonadnih funkcij, kar se kaže v preprečevanju zanositve in laktacije. Poenostavljeno lahko rečemo, da med stradanjem leptin ovira spolno in ščitnično os, spodbuja pa glukokortikoidno os (38). Znižana raven leptina je lahko vzrok za presnovne in neuroendokrine spremembe, kot je odsotnost menstruacije, pri bolnicah z anoreksijo nervoza in debelih osebah, ki so izrazito shujšale (39, 40). Pri bolnicah z anoreksijo nervoza je transport leptina skozi krvno-možgansko bariero lahko povečan. Tudi zaradi tega je zvečanje telesne teže pri teh bolnicah izjemno zahtevno. Nekatere raziskave kažejo, da je leptin povezan s kaheksijo pri bolnikih z rakastimi boleznimi in aidsom. V teh primerih so velike vrednosti leptina verjetno posledica delovanja citokinov (predvsem TNF- α), ki lahko vplivajo na njegovo izločanje (41, 42).

Leptin, debelost in leptinska rezistenca

Serumska raven leptina je pri debelih ljudeh višja kot pri ljudeh z normalno telesno težo in je v pozitivni povezavi z indeksom telesne teže (9). Hiperleptinemija, ki pri debelih ljudeh ne uspe zavreti apetita in povečati porabe telesne energije, kaže na neobčutljivost za leptin oziroma leptinsko rezistenca. Mehanizmi leptinske rezistence pri debelih ljudeh doslej še niso bili pojasnjeni. Najbolj verjetna je predpostavka, da je za leptinsko rezistenca odgovorna receptorska ali poreceptorska motnja (43). Ugotovljenih je bilo več polimorfizmov v leptinskem receptorju, vendar so vsi odkriti polimorfizmi redki

ali nepomembni za delovanje receptorjev (44, 45). Prav tako še ni odkrita motnja na poreceptorski ravni, čeprav intenzivno poteka proučevanje številnih molekul, ki sodelujejo pri prenašanju signalov od leptinskega receptorja do efektorja. Leptinska rezistenca bi bila, vsaj pri nekaterih debelih bolnikih, lahko posledica motenega prestopa leptina prek krvno-možganske bariere (46). Na to možnost kažejo živalske raziskave, kjer so dodaten učinek leptina dosegli z neposrednim vbrizganjem leptina v likvor pri živalih, kjer ista količina, dodana v plazmo, ni bila več učinkovita (47). Možno je tudi, da vezavne beljakovine za leptin inaktivirajo molekulo leptina (48). Manj verjetne pa so predpostavke, da je pri debelih ljudeh pospešena razgradnja leptina, da se leptin veže na »napačne« receptorje ali da se pojavijo protitelesa proti leptinu. Pojasnitev mehanizmov, ki so odgovorni za leptinsko rezistenca, bo pomemben prispevek k razumevanju patogeneze debelosti in specifičnemu zdravljenju debelosti. V eni izmed naših raziskav smo ugotovili, da imajo ženske, ki se po uspešni shujševalni kuri ponovno zredijo, manjše izhodne vrednosti serumskega leptina od žensk, ki po uspešnem hujšanju uspejo obdržati zmanjšano telesno težo. Sklepali smo, da pri enako debelih ženskah morda obstaja različna stopnja leptinske rezistenca, ki lahko vpliva na uspeh hujšanja (49).

Leptin in polimetabolni sindrom

Polimetabolni sindrom je bolezensko stanje, za katero je značilno: hiperinzulinemija, hiperglikemija, inzulinska rezistenca (neodzivnost na inzulin), dislipidemija, motnje fibrinolize, arterijska hipertenzija in debelost. Bolniki s polimetaboličnim sindromom imajo izrazito povečano nevarnost za nastanek boleznih srca in ožilja in zgodnejšo umrljivost (50). Običajno bolnike z debelostjo in inzulinsko rezistenca spremlja tudi hiperleptinemija in leptinska rezistenca (51). Delovanje leptina in inzulina je povezano, hormona vplivata na izločanje drug drugega. Bolniki s polimetaboličnim sindromom imajo torej pogosto dve pomembni presnovni rezistenci: inzulinsko in leptinsko.

Pri glodalcih inzulin zveča izražanje leptina v maščobnih celicah in raven leptina v plazmi (52). V raziskavah na ljudeh so potrdili, da hiperinzulinemija, povzročena z »inzulinskim clampom« ali z eksogenim inzulinom med zdravljenjem sladkorne bolezni, zveča serumsko raven leptina (53). Vedno več pa je tudi podatkov, da leptin pomembno vpliva na inzulin in inzulinsko rezistenca. Pri različnih modelih debelih miših s hiperglikemijo, hiperinzulinemijo in inzulinsko rezistenca je dodajanje eksogenega leptina izboljšalo vse omenjene presnovne nepravilnosti, neodvisno od zmanjšanja telesne teže (54). Možno je, da je ta učinek dosežen prek aktivacije leptinskih receptorjev na pankreatičnih celicah beta, kar povzroči zmanjšano izločanje inzulina. Leptin lahko vpliva na inzulinsko rezistenca tudi prek aktivacije svojih receptorjev v jetrih, skeletnih mišicah in maščobnih celicah, ki so najpomembnejši tarčni organi tudi za inzulin in inzulinsko rezistenca (55). Dokazali so namreč, da infuzija eksogenega leptina pri podganah zveča hepatično in periferno občutljivost za inzulin (55).

Ob leptinski rezistenci je leptin manj učinkovit pri zviranju izločanja inzulina iz trebušne slinavke, kar lahko povzroči hiperinzulinemijo in posledično vse presnovne spremembe, ki so značilne za polimetabolni sindrom. Čeprav še ni dovolj podatkov, ki bi dokončno opredelili odnos med inzulinsko in leptinsko rezistenca, se zdi, da je lahko za zdravljenje polimetaboličnega sindroma bolj pomembna leptinska kot inzulinska rezistenca.

Leptin in sladkorna bolezen

Vloga leptina pri sladkorni bolezni še ni pojasnjena. Nekateri domnevajo, da leptin lahko sodeluje pri razvoju sladkorne

bolezni (56, 57), čeprav smo v prejšnjem poglavju omenili, da izboljša presnovo glukoze in omili inzulinsko rezistenca. Med leptinom in inzulinom obstaja tesna fiziološka povezava. Če je le-ta motena, lahko pri debelih ljudeh vodi v razvoj sladkorne bolezni. Ko je leptinska rezistenca polno razvita, leptin ne zavre izločanja inzulina (kot običajno), temveč celo pospeši njegovo izločanje, na periferiji pa poslabša inzulinsko rezistenca (58–60). Povečane vrednosti inzulina spodbujajo izločanje leptina, ki zaradi »okvare« leptinskih receptorjev na celicah beta v trebušni slinavki povzroči še dodatno izločanje inzulina. Pretirano izločanje inzulina lahko privede do izčrpanja celic beta in razvoja sladkorne bolezni (58–60). Omenjena hipoteza še ni bila popolnoma potrjena. Vendar se zdi, da so začetne stopnje leptinske rezistenca udeležene v patogenezi polimetaboličnega sindroma, medtem ko so hujše stopnje leptinske rezistenca morda povezane z razvojem sladkorne bolezni pri debelih.

Leptin in arterijska hipertenzija

Leptin lahko neposredno vpliva na arterijski tlak prek adrenergičnega sistema (61, 62). Verjetno je vpleten tudi v aktivacijo renin-angiotenzin-aldosteronske osi. Leptin lahko deluje tudi na endotelijske celice v uporovnem ožilju in spremeni razmerje med vazokonstrikcijo in vazodilatacijo v prid prvemu, kar prav tako vodi v arterijsko hipertenzijo (61, 62). Zanesljivih dokazov o vlogi leptina v nastanku arterijske hipertenzije pri ljudeh še nimamo.

Leptin in aterotromboza

Nedavno opravljene raziskave so pokazale možnost neposredne povezave med leptinom in razvojem ateroskleroze ter tveganjem za žilne trombotične dogodke. Ugotovili so, da se leptinski receptorji nahajajo na trombocitih. Prek teh receptorjev leptin v prisotnosti ADP spodbudi agregacijo trombocitov. Učinek na agregacijo je izrazitejši ob večji koncentraciji leptina (63). Tako je možno, da se leptin neposredno vpleta v nastanek arterijskih in venskih strdkov.

Leptin verjetno pomembno vpliva tudi na endotelijsko funkcijo. Na endotelijskih celicah so namreč ugotovili prisotnost leptinskih receptorjev. Raziskave *in vitro* so pokazale, da leptin pospeši akumulacijo prostih radikalov v endotelijskih celicah, kar sproži razvoj aterogenega procesa (64). Nedavno so ugotovili leptinske receptorje tudi na makrofagih. Prek njih leptin lahko uravnava homeostazo holesterola v makrofagih. Tako se lahko makrofagi v primeru leptinske rezistenca aktivirajo, kar lahko prispeva k razvoju aterosklerotičnega procesa (65). Zdi se, da je leptin povezan tudi z motnjami fibrinolitičnega sistema. Ugotovili smo, da je raven zaviralca aktivatorja plazminogena (PAI-1) tesno usklajena z ravni leptina med izgubljanjem in ponovnim pridobivanjem telesne teže (66).

Rekombinantni leptin in klinične raziskave

Na različnih vrstah sesalcev so ugotovili, da zdravljenje z rekombinantnim leptinom zmanjša telesno težo (67). Pomembno je poudariti, da se zdravljenje debelosti z leptinom razlikuje od zdravljenja z omejitvenimi dietami. Za zmanjšanje telesne teže ob zdravljenju z leptinom je značilno zmanjšanje maščobnega tkiva, medtem ko omejitvene diete zmanjšajo tako maščobno kot tudi suho maso. Trenutno še ni dovolj kliničnih dokazov o učinkovitosti leptina pri zdravljenju debelosti pri ljudeh (68). Opravljenih je bilo le nekaj kliničnih raziskav. Predvsem gre za raziskave v I. in II. fazi kliničnega preizkušanja. Pokazale so, da je zdravljenje z rekombinantnim leptinom v

obliki podkožnih injekcij varno (68). Razen občasnih blažjih sprememb na injekcijskem mestu niso ugotovili drugih stranskih učinkov. Heymsfield in sod. so ugotovili, da je vsakodnevno dovajanje rekombinantnega leptina privedlo do zmernega zmanjšanja telesne teže in maščobne mase pri debelih osebah in v manjši meri tudi pri normalno težkih osebah (69). Medtem ko rezultati dveh drugih, manjših raziskav, v katerih so rekombinantni leptin dovajali enkrat tedensko, niso pokazali zmanjšanja telesne teže (70, 71). Rezultati prvih raziskav kažejo, da leptin ni čudežno zdravilo. O zdravljenju z leptinom ostajajo neodgovorjena še številna vprašanja. Predvsem ni jasno, ali so potrebni večji odmerki leptina in ali je podkožno zdravljenje dovolj učinkovito. Vsaj teoretično bi bil najbolj učinkovit leptin, ki bi ga dovajali intratekalno ali pa bi sam prehajal krvno-možgansko pregrado. Raziskovalci že iščejo manjše molekule leptina (oz. njegove aktivne dele), ki bi lahko prehajale krvno-možgansko pregrado (72). V bližnji bodočnosti pričakujemo predvsem rezultate kliničnih raziskav o učinkovitosti rekombinantnega leptina in nadaljnje podatke o vplivu leptina na aterosklerotični proces. Morda bo ravno proučevanje leptina prispevalo k nadaljnjemu razumevanju patogeneze ateroskleroze.

Literatura

- Kormar L. The growing epidemic of obesity. *NJ Med* 2002; 99: 30-8.
- Must A, Spadano J, Coakley EH, Field AE, Colditz G, Dietz WH. The disease burden associated with overweight and obesity. *J Am Med Assoc* 1999; 282: 1523-9.
- Alisson DB, Fontaine KR, Manson JE, Stevens J, VanItallie TB. Annual deaths attributable to obesity in the United States. *JAMA* 1999; 282: 1530-8.
- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372: 425-32.
- Zhang F, Babinski MB, Beals JM et al. Crystal structure of the obese protein leptin-E100. *Nature* 1997; 387: 206-9.
- Cinti S, Frederick RC, Zingaretti MC et al. Immunohistochemical localization of leptin and uncoupling protein in white and brown adipose tissue. *Endocrinology* 1997; 138: 797-804.
- Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa WN et al. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nat Med* 1997; 3: 1029-33.
- Lonngqvist F, Nordfors L, Jansson M, Thorne A, Schalling M, Arner P. Leptin secretion from adipose tissue in women. Relationship to plasma levels and gene expression. *J Clin Invest* 1997; 99: 2398-404.
- Considine RV, Sinha MK, Heiman ML et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996; 334: 292-5.
- Kolaczynski JW, Considine RV, Ohannesian J et al. Responses of leptin to short term fasting and refeeding in humans. *Diabetes* 1996; 45: 1511-15.
- Kolaczynski JW, Ohannesian J, Considine RV, Marco CC, Caro JF. Response of leptin to short-term and prolonged overfeeding, fasting and refeeding in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 4162-5.
- Mantzoros CS, Prasad AS, Beck F et al. Zinc may regulate serum leptin concentrations in humans. *J Am Coll Nutr* 1998; 17: 270-5.
- Donahoo WT, Jensen TR, Yost TJ, Eckel RH. Isoproterenol and somatostatin decrease plasma leptin in humans: a novel mechanism regulating leptin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 4139-43.
- Miell JP, Englaro P, Blum WF. Dexamethasone induces an acute and sustained rise in circulating leptin levels in normal human subjects. *Horm Metab Res* 1996; 28: 704-7.
- Malmström R, Taskinen MR, Karonen SL, Yki-Järvinen H. Insulin increases plasma leptin concentrations in normal subjects and patients with NIDDM. *Diabetologia* 1996; 45: 1364-6.
- Mantzoros CS, Moschos S, Avramopoulos I et al. Leptin concentrations in relation to body mass index and the tumor necrosis factor- α system in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 3408-13.
- Janik JE, Curti BD, Considine RV et al. Interleukin 1 α increases serum leptin concentrations in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 3084-6.
- Grunfeld C, Zhao C, Fuller J et al. Endotoxin and cytokines induce expression of leptin, the ob gene product, in hamsters. *J Clin Invest* 1996; 97: 2152-7.
- Saad MF, Damani S, Gingerich RI et al. Sexual dimorphism in plasma leptin concentration. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 579-84.
- Rosenbaum M, Nicolson M, Hirsch J et al. Effects of gender, body composition, and menopause on plasma concentrations of leptin. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 3424-7.
- Licinio J, Mantzoros C, Negrao AB et al. Human leptin levels are pulsatile and inversely related to pituitary-adrenal function. *Nat Med* 1997; 3: 575-9.
- Sinha MK, Sturis J, Ohannesian J et al. Ultradian oscillations of leptin secretion in humans. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 228: 733-8.
- Tartaglia L. The leptin receptor. *J Biol Chem* 1997; 272: 6093-6.
- Tritos N, Mantzoros CS. Leptin: its role in obesity and beyond. *Diabetologia* 1997; 40: 1371-9.
- Wolf G. Neuropeptides responding to leptin. *Nutr Rev* 1997; 55: 85-8.
- Flier JS, Maratos-Flier E. Obesity and the hypothalamus: novel peptides for new pathways. *Cell* 1998; 92: 437-40.
- Yu WH, Kimura M, Walczewska A, Karanar S, McCann SM. Role of leptin in hypothalamic-pituitary function. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 1023-8.
- Kristensen P, Judge ME, Thim L et al. Hypothalamic CART is a new anorectic peptide regulated by leptin. *Nature* 1998; 393: 72-6.
- UrE, Grossman A, Despres JP. Obesity results as a consequence of glucocorticoid induced leptin resistance. *Horm Metab Res* 1996; 28: 744-7.
- Caro JF, Kolaczynski JW, Nyce MR et al. Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *Lancet* 1996; 348: 159-61.
- Cumin F, Baum HP, Levens N. Leptin is cleared from the circulation primarily by the kidney. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996; 20: 1120-6.
- Mantzoros CS. Leptin and the hypothalamus: neuroendocrine regulation of food intake. *Mol Psychiatry* 1999; 4: 8-12.
- Wang ZW, Zhou YT, Kakuma T et al. Comparing the hypothalamic and extrahypothalamic actions of endogenous hyperleptinemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 10373-8.
- Iqbal J, Pompolo S, Considine RV, Clarke JJ. Localization of leptin receptor-like immunoreactivity in the corticotropes, somatotropes, and gonadotropes in the ovine anterior pituitary. *Endocrinology* 2000; 141: 1515-20.
- Toni R, Jackson IM, Lechan RM. Neuropeptide-Y-immunoreactive innervation of thyrotropin-releasing hormone-synthesizing neuron in the rat hypothalamic paraventricular nucleus. *Endocrinology* 1990; 126: 2444-53.
- Carro E, Seoane LM, Senaris R, Considine RV, Casanueva FF, Dieguez C. Interaction between leptin and neuropeptide Y on in vivo growth hormone secretion. *Neuroendocrinology* 1998; 68: 187-91.
- Chan JL, Mantzoros CS. Leptin and the hypothalamic-pituitary regulation of the gonadotropin-gonadal axis. *Pituitary* 2001; 4: 87-92.
- Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros CS et al. Role of leptin in neuroendocrine response to fasting. *Nature* 1996; 382: 250-2.
- Mantzoros CS. Obesity eating disorders and restrained eating: is leptin the missing link? *Mol Psychiatry* 1997; 2: 377-80.
- Audi L, Mantzoros CS, Vidal-Puig A, Vargas D, Guuussinye M, Carrascosa A. Leptin in relation to the resumption of menses in women with anorexia nervosa. *Mol Psychiatry* 1998; 3: 544-7.
- Mantzoros CS, Moschos S, Avramopoulos I et al. Leptin concentrations in relation to body mass index and the tumor necrosis factor- α system in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 3408-13.
- Yarasheski KE, Zachwieja JJ, Horgan MM, Powderly WG, Santiago JV, Landt M. Serum leptin concentrations in human immunodeficiency virus-infected men with low adiposity. *Metabolism* 1997; 46: 303-5.
- Wauters M, Mertens I, Chagnon M et al. Polymorphisms in the leptin receptor gene, body composition and fat distribution in overweight and obese women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000; 25: 714-20.
- Echwald SM, Sorensen TD, Sorensen TI et al. Amino acid variants in the human leptin receptor: lack of association to juvenile onset obesity. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 233: 248-52.
- Considine RV, Considine EL, Williams CJ et al. Mutation screening and identification of a sequence variation in the human of gene coding region. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 220: 735-9.
- Caro JF, Kolaczynski JW, Nyce MR et al. Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *Lancet* 1996; 348: 159-61.
- Van Heek M, Compton DS, France CF et al. Diet-induced obese mice develop peripheral, but not central, resistance to leptin. *J Clin Invest* 1997; 99: 385-90.
- Sinha MK, Opentanova I, Ohannesian JP et al. Evidence of free and bound leptin in human circulation-studies in lean and obese subjects and during short-term fasting. *J Clin Invest* 1996; 98: 1277-82.
- Mavri A, Stegnar M, Šabovič M. Do baseline serum leptin levels predict weight regain after dieting in obese women? *Diab Obes Metab* 2001; 3: 293-6.
- Smiley T, Oh P, Shane LG. Relationship of insulin resistance measured by reliable indexes to coronary artery disease risk factors and outcomes: a systematic review. *Can J Cardiol* 2001; 17: 797-805.
- Segal KR, Landt M, Klein S. Relationship between insulin sensitivity and plasma leptin concentration in lean and obese men. *Diabetes* 1996; 45: 987-91.
- Saladin R, De Vos P, Guerre-Millo M et al. Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration. *Nature* 1995; 377: 527-9.
- Segal KR, Landt M, Klein S. Relationship between insulin sensitivity and plasma leptin concentration in lean and obese men. *Diabetes* 1996; 45: 987-91.
- Muzzin P, Eisensmith RC, Copeland KC, Woo SL. Correction of obesity and diabetes in genetically obese mice by leptin gene therapy. *PNAS* 1996; 93: 14804-8.
- Sivitz WI, Walsh SA, Morgan DA, Thomas MJ, Haynes WG. Effects of leptin on insulin sensitivity in normal rats. *Endocrinol* 1997; 138: 3395-401.

56. Zimmet P, Alberti K. Leptin: is it important in diabetes? *Diabetic Medicine* 1996; 13: 501-3.
 57. Taylor SI, Barr V, Reitman M. Does leptin contribute to diabetes caused by obesity. *Science* 1996; 274: 115-2.
 58. Leclercq-Meyer V, Considine RV, Sener A, Malaisse WJ. Do leptin receptors play a functional role in the endocrine pancreas? *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 229: 794-8.
 59. Widjaja A, Stratton IM, Horn R, Holman RR, Turner R, Brabant G. Plasma leptin, obesity, and plasma insulin in type 2 diabetes subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 654-7.
 60. Seufert J, Kieffer TJ, Leech CA et al. Leptin suppression of insulin secretion and gene expression in human pancreatic islets: implications for the development of adipogenic diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 760-6.
 61. Shek EW, Brands MW, Hall JE. Chronic leptin infusion in chrisis arterial pressure. *Hypertension* 1998; 31: 409-14.
 62. Montani JP, Antic V, Yang Z, Dulloo A. Pathways from obesity to hypertension: from the perspective of a vicious triangle. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002; 26: Suppl 2: S28-38.
 63. Constantinides S, Schaefer K, Loskutoff DJ. The prothrombotic effect of leptin. Possible implications for the risk of cardiovascular disease in obesity. *Ann NY Ac Sci* 2001; 947: 134-42.
 64. Bouloumie A, Marumo T, Lafontan M, Busse R. Leptin induces oxidative stress in human endothelial cells. *FASEB J* 1999; 13: 1231-8.
 65. O'Rourke L, Yeaman S, Shepherd PR. Insulin and leptin acutely regulate cholesterol ester metabolism in macrophages by novel signaling pathways. *Diabetes* 2001; 50: 955-61.
 66. Mavri A, Stegnar M, Krebs M, Sentočnik JT, Geiger M, Binder BR. Impact of adipose tissue on plasma plasminogen activator inhibitor-1 in dieting obese women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1582-7.
 67. Friedman JM. Leptin receptors and a control of body weight. *Nutr Res* 1998; 56: 38-46.
 68. Mantzoros CS, Flier JS. Editorial: leptin as a therapeutic agent-trials and tribulations. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 4000-2.
 69. Heymsfield SB, Greenberg AS, Fujioka K et al. Recombinant leptin for weight loss in obese and lean adults: a randomized, controlled, dose-escalation trial. *JAMA* 1999; 282: 1568-75.
 70. Hukshorn CJ, Saris WH, Westerterp-Plantenga MS, Farid AR, Smith FJ, Campfield LA. Weekly subcutaneous pegylated recombinant native human leptin (PEG-OB) administration in obese men. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 4003-9.
 71. Westerterp-Plantenga MS, Saris WH, Hukshorn CJ, Campfield LA. Effects of weekly administration of pegylated recombinant human OB protein on appetite profile and energy metabolism in obese men. *Am J Clin Nutr* 2001; 74: 426-34.
 72. Banks WA, Lebel CR. Strategies for the delivery of leptin to the CNS. *J Drug Target* 2002; 10: 297-308.
-