

REGULACJA POBIERANIA POKARMU NA POZIOMIE OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO U OTYŁYCH SZCZURÓW ZUCKER (fa/fa) – ROLA LEPTYNY

THE REGULATION OF FEEDING BEHAVIOR IN OBESE fa/fa
ZUCKER RATS AT THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM LEVEL –
THE ROLE OF LEPTIN

Iwona BOGACKA, Joanna MALESA

Katedra Fizjologii Zwierząt, Wydział Biologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
w Olsztynie

Streszczenie: Celem prezentowanej pracy jest charakterystyka zaburzeń w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) szczurów określanych jako fa/fa Zucker, u których w wyniku upośledzonego funkcjonowania leptyny obserwuje się gwałtowny rozwój otyłości. Szczury fa/fa mają defekt w genie kodującym receptor leptyny polegający na pojedynczej zamianie adeniny na cytozynę w pozycji 806 domeny zewnątrzkomórkowej receptora i w rezultacie kodowania proliny zamiast glutaminy (Gln269Pro). W następstwie mutacji zaburzona jest regulacja pobierania pokarmu, która spowodowana jest prawdopodobnie brakiem funkcjonalnych receptorów i/lub leptyny w OUN. U szczurów tych obserwuje się zachwianie homeostazy energetycznej i dramatyczny przyrost masy ciała. Pomimo wysokiego poziomu leptyny we krwi zwierzęta te są niewrażliwe (oporne) na krążący w organizmie hormon, który w normalnych warunkach, produkowany głównie przez tkankę tłuszczową, docierając do mózgu zmniejsza pobieranie pokarmu i wpływa na wzrost zużycia energii przez organizm. Udział leptyny w regulacji pobierania pokarmu i homeostazy energetycznej organizmu obejmuje interakcje z wieloma systemami hormonalnymi na poziomie OUN, a w prezentowanej pracy przeglądowej wykazano, że w mózgu szczura fa/fa występują nieprawidłowości w ekspresji genu i/lub białka neuropeptydu Y, oreksyn, peptydu CART czy białka AgRP. W mózgu otyłych szczurów fa/fa obserwuje się wyraźny spadek koncentracji insuliny oraz jej receptorów. Ponadto, u szczurów tych stwierdzono również zredukowaną liczbę glukozy-wrażliwych neuronów, a wykorzystanie glukozy było wyraźnie zmniejszone w różnych rejonach mózgu. Prezentowane dane są częścią skomplikowanego i nie do końca wyjaśnionego mechanizmu regulującego zachowanie żywieniowe u szczurów fa/fa.

Słowa kluczowe: oreksyny, neuropeptyd Y, leptyna, peptyd CART, melanokortyna, insulina, neurony wrażliwe na glukozę.

Summary: The aim of the presented paper is the description of disturbances in the central nervous system (OUN) functions of fa/fa Zucker rats, in which the development of morbid obesity is observed as a result

of a defect in leptin functioning. Zucker fa/fa rats possess a defect in a gene, which codes leptin receptor. A single exchange of adenine to cytosine in the 806th position of extracellular domain of the receptor results in coding proline instead of glutamine (Gln269Pro). Due to point mutation, the regulation of food intake in fa/fa rats is drastically changed, probably caused by the lack of the leptin receptor and/or leptin protein in the OUN. As a consequence, the deregulation of energetic homeostasis and a dramatic increase of body mass are observed. In spite of the high level of leptin in the blood, these animals are resistant to the circulating hormone, which under regular conditions reaches the brain decreasing food intake and enhancing the energy metabolism. The involvement of leptin in the regulation of food intake comprises interactions with several hormonal systems in the OUN. In the presented review we have shown that the lack of the functional leptin receptors has an impact on synthesis of several mediators in the brain. Abnormalities in gene expression and/or protein levels of neuropeptide Y, orexin, CART peptide, or AgRP were observed in the brain of the rats. Additionally, lower concentration of insulin and its receptors have been also noted in the brain of fa/fa rats. Disrupted leptin function may also lead to an impairment of the system reacting to glucose in the brain. It has been shown that the brain of obese Zucker rat contains significantly reduced number of glucose-sensitive neurons and glucose utilization was markedly diminished in distinct hypothalamic regions. However, the presented data are only a part of a complicated and partially explained mechanisms regulating feeding behavior in fa/fa rats.

Keywords: neuropeptide Y, orexin, CART peptide, leptin, insulin, glucose-sensitive neurons.

WPROWADZENIE

Pobieranie pokarmu i masa ciała są kontrolowane przez ośrodki zlokalizowane w różnych regionach ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Główny ośrodek regulacji pobierania pokarmu umiejscowiony jest w podwzgórzu i pniu mózgu. Powszechnie uważa się, że w części bocznej podwzgórza (LH) zlokalizowany jest ośrodek głodu, a w części podstawno-przyśrodkowej (MBH) ośrodek sytości. Do ośrodków głodu i sytości przekazywane są informacje między innymi z obwodu ciała o aktualnym stanie energetycznym organizmu. Nieprawidłowości w funkcjonowaniu tych mechanizmów prowadzić mogą do poważnych zaburzeń pobierania pokarmu, a w konsekwencji mogą być przyczyną rozwoju otyłości – problemu, który budzi obecnie niepokój ludzi w krajach rozwiniętych i rozwijających się.

W ciągu ostatnich lat nasza wiedza na temat specyficznych mediatorów kontrolujących pobieranie pokarmu gwałtownie wzrosła. Jednym z takich przełomów w zrozumieniu powstawania otyłości było odkrycie leptyny, która stanowi brakujący łącznik pomiędzy obwodem a ośrodkami OUN [18, 46, 96]. Od momentu odkrycia leptyny w roku 1994 w tkance tłuszczowej [108] pojawiła się imponująca ilość publikacji dotyczących syntezy, funkcji oraz regulacji jej wydzielania u człowieka i różnych gatunków zwierząt [17, 68, 86]. Leptyna pełni określone funkcje po związaniu ze swoim receptorem błonowym [89]. Dotychczas scharakteryzowano kilka izoform receptorów dla leptyny (OB-Ra, -Rb, -Rc, -Rd, -Re, -Rf) powstałych w wyniku alternatywnego składowania genu. W budowie receptora wyróżnić należy trzy domeny: zewnątrzkomórkową, przezbłonową i wewnątrzkomórkową, z których dwie pierwsze są identyczne we wszystkich izoformach. Różnice dotyczą długości domeny wewnątrzkomórkowej i jest ona najdłuższa w długiej formie (OB-Rb), która jest

najważniejszą w transdukcji sygnału wewnątrz komórki. Spośród kilku krótkich izoform receptora najwięcej uwagi poświęcono formie OB-Ra, która uczestniczy w transporcie leptyny do poszczególnych tkanek oraz przez barierę krew-mózg (BBB) dostarcza leptynę do OUN.

Mutacje w genie kodującym leptynę lub receptor dla leptyny opisywano obszernie u ludzi i gryzoni [17]. Obecnie scharakteryzowano kilka zwierzęcych modeli otyłości, powstałej w wyniku defektów w genie kodującym leptynę bądź jej receptor. Najbardziej znane są myszy ob/ob lub db/db, u których otyłość jest odpowiednio następstwem mutacji w genie kodującym leptynę lub receptor dla leptyny [14, 71]. Kolejnym modelem zwierzęcym jest szczur określany jako fa/fa należący do szczepu Zucker, a mutacja punktowa w genie kodującym receptor leptyny jest główną przyczyną występowania fenotypu u tego szczepu [91] oraz wielu metabolicznych i hormonalnych nieprawidłowości. Szczury takie charakteryzuje wysoki poziom triglicerydów, cholesterolu, wolnych kwasów tłuszczowych, insuliny i glukozy we krwi oraz nieprawidłowości w wydzielaniu szeregu hormonów przez tkankę tłuszczową i gruczoły dokrewne, np. adiponektyny, rezystyny, leptyny czy glikokortykoidów.

Pojedyncza zamiana adeniny na cytozynę w pozycji 806 domeny zewnątrzkomórkowej receptora prowadzi do kodowania aminokwasu prolina zamiast glutaminy (Gln269Pro). Otyłe szczury fa/fa mają istotnie podwyższony poziom leptyny we krwi krążącej [9] oraz zwiększoną ekspresję genu leptyny w białej tkance tłuszczowej [92]. Zwierzęta te jednak wykazują wysoką oporność na działanie krążącej we krwi leptyny, co prawdopodobnie jest jedną z głównych przyczyn wyraźnie zwiększonej masy ciała. Chua i wsp. [16] obserwowali, że mutacja fa prowadzi do blisko dziesięciokrotnej redukcji ilości błonowego receptora leptyny. Ponieważ do dnia dzisiejszego scharakteryzowano wiele izoform receptora leptyny, a mutacja genu kodującego ten receptor dotyczy zewnątrzkomórkowej domeny, wydaje się zatem wysoce prawdopodobne, że wszystkie formy receptora mają poważny defekt [88]. Defekt ten prawdopodobnie nie wpływa istotnie na wiązanie się leptyny z własnym receptorem, lecz zaburza dimeryzację tego receptora i w rezultacie przekazywanie sygnału wewnątrz komórki [106]. Istotnie, Crouse i wsp. [19] w swoich badaniach dowodzili, że receptory są zdolne do wiązania leptyny, jednak ostatecznie leptyna nie powoduje transdukcji sygnału w komórce. Obserwacja taka jasno sugeruje, że długa izoforma receptora leptyny, jako jedyna odpowiedzialna za aktywację szlaku JAK/STAT, jest nieaktywna u otyłych szczurów Zucker. W innych badaniach, Kellerer i wsp. [44] sugerowali, że wewnątrzkomórkowy szlak po aktywacji receptora insuliny może interferować ze szlakiem sygnalizacyjnym leptyny na poziomie JAK/STAT w hiperinsulinemii połączonej z opornością na leptynę. W związku z powyższym, wysoki poziom insuliny powodować może taką oporność na leptynę, jaka obserwowana jest u szczurów fa/fa. Istotnie, zwierzęta te charakteryzuje wysoki poziom leptyny oraz insuliny, aczkolwiek dokładny mechanizm powstania oporności na leptynę jest wciąż nie do końca poznany.

Powyższe obserwacje wskazują, że otyłość obserwowana u szczurów fa/fa jest spowodowana przez co najmniej dwa czynniki: po pierwsze redukcję ilości błonowych receptorów dla leptyny, a po drugie zakłóceń w transdukcji sygnału wew-

nątrz komórki. Nie ma również jednoznacznej odpowiedzi na pytanie, czy leptyna dociera do specyficznych regionów w mózgu u otyłych osobników. Uważa się, że transporterem leptyny do mózgu może być krótka forma receptora Ob-Ra [43], która u szczurów fa/fa, prawdopodobnie jak długa forma OB-Rb, nie pełni prawidłowo swoich funkcji [16]. Stwierdzono, że u otyłych szczurów Zucker stosunek koncentracji leptyny w płynie mózgowo-rdzeniowym (CSF) do koncentracji leptyny w osoczu był blisko dziesięciokrotnie wyższy niż u osobników normalnych [101]. Jednakże porównywalne stężenia leptyny obserwowane w CSF pomiędzy szczurami normalnymi oraz otyłymi sugerują, że leptyna może docierać do CSF, ale droga dotarcia do OUN jest raczej nieznaną i obejmuje być może mechanizmy niezależne od leptyny. Burguera i wsp. [11] sugerowali, że otyłość u fa/fa szczurów może być powiązana z upośledzonym transportem leptyny poprzez barierę krew-mózg. Zakłada się, że leptyna dociera do płynu mózgowo-rdzeniowego za pośrednictwem wysycającego się transportu przez śródbłonek naczyń mózgowych i splotów naczyniowych komór mózgu. System transportujący leptynę jest najbardziej aktywny przy fizjologicznym stężeniu leptyny, jakie występuje u zwierząt normalnych [11], a wyraźnie podwyższony poziom leptyny we krwi osobników otyłych może blokować transport hormonu.

Dlatego kolejnym krokiem w badaniach było ustalenie, czy podanie egzogennej leptyny bezpośrednio do struktur OUN reguluje ilość pobieranego pokarmu u osobników otyłych w podobny sposób jak u zwierząt kontrolnych. Stwierdzono, że infuzje leptyny do komory mózgu wpływały podobnie na ilość spożywanego pokarmu i na przyrost masy ciała u kontrolnych i otyłych zwierząt [98]. Jednak istnieją również publikacje, które nie potwierdzają takiej zależności [80]. Inni autorzy dowodzą, że w przypadku osobników otyłych podanie egzogennej leptyny wywołuje właściwy efekt wyrażający się ilością pobieranego pokarmu tylko wtedy, gdy dawka leptyny podawana do mózgu lub obwodowo była wielokrotnie wyższa (2–10 razy) w porównaniu z grupą kontrolną [20]. Wskazywałoby to na obniżoną wrażliwość OUN na leptynę u osobników otyłych. Powyższe informacje mogą także sugerować obecność receptorów leptyny, które nie uległy mutacji i wykazują pewną aktywność u szczurów fa/fa, ale są to jedynie spekulacje. Wiedza na ten temat jest niekompletna zwłaszcza, że dostępne są również dane wykazujące brak wpływu egzogennej leptyny podawanej bezpośrednio do mózgu lub obwodowo na pobieranie pokarmu przez szczury fa/fa [54].

Udział leptyny w regulacji pobierania pokarmu i jej wpływu na homeostazę energetyczną obejmuje interakcję z wieloma innymi systemami hormonalnymi na poziomie OUN. Istnieje wiele doniesień, że w mózgu szczura fa/fa występują nieprawidłowości w ekspresji genu i/lub białka innych mediatorów wytwarzanych w ośrodkowym układzie nerwowym lub docierających do mózgu z obwodu, które mają poważne hormonalne i metaboliczne konsekwencje obserwowane u tych zwierząt. Liczne doniesienia ostatnich lat wskazują również na zależności pomiędzy leptyną a neuronami wrażliwymi na poziom glukozy na terenie OUN, których funkcje są wyraźnie zaburzone u szczurów fa/fa.

INTERAKCJE LEPTYNY Z NEURONAMI WRAŻLIWYMI NA GLUKOZĘ

W skład ośrodka głodu i sytości wchodzi neuronów wrażliwych na stężenie glukozy i zgodnie z teorią glukostatyczną sformułowaną ponad 50 lat temu [59] wiadomo, że glukoza jako ważny metaboliczny czynnik docierając do mózgu reguluje zachowania żywieniowe i homeostazę energetyczną. Szereg publikacji wykazuje, że neurony podwzgórza (brzuszo-przyśrodkowe i bocznej części podwzgórza) reagują na fluktuacje glukozy [55, 56, 72]. Wyselekcjonowana populacja neuronów w różnych regionach mózgu zaangażowanych w pobieranie pokarmu zwiększa (*glucose-responsive*) lub obniża (*glucose-sensitive*) tempo wyładowań (*firing rate*), gdy poziom glukozy odpowiednio wzrasta lub maleje [73]. Wiele uwagi naukowcy poświęcają mechanizmom, za pomocą których neurony reagują na poziom glukozy. Sugeruje się, że neurony podobnie jak komórki beta trzustki mogą wykorzystywać jako detektory glukozy: kanały potasowe zależne od ATP (K_{ATP}) [73, 84, 107], transporter glukozy (GLUT-2), glukokinazę (GK) czy receptor dla peptydu glukagonopodobnego-1 (GLP-1R) [42, 55, 57, 77, 90]. Komórki wykazujące ekspresję tych wszystkich czynników były charakteryzowane w różnych rejonach mózgu zaangażowanych w pobieranie pokarmu [58, 66].

Badania wskazują, że w mózgu otyłych szczurów Zucker oraz w modelu otyłości indukowanej przez dietę obserwuje się zredukowaną liczbę neuronów wrażliwych na glukozę, a ponadto neurony te charakteryzują się upośledzoną odpowiedzią na glukozę [74, 83]. Wykorzystanie glukozy było wyraźnie obniżone w różnych regionach mózgu szczurów fa/fa [25, 95]. Ponadto, podawanie glukozy lub jej analogów do trzeciej komory mózgu powodowało wyraźne zmiany w ilości pobieranego pokarmu, ale były one widoczne tylko u osobników kontrolnych, a nie u otyłych fa/fa [25]. Dodatkowo, dokomorowe iniekcje 2-deoksy-glukozy (2-DG) otyłym szczurom nie miały wpływu na pobieranie pokarmu przez 3 pierwsze godziny, ale istotnie zwiększały ilość spożywanego pokarmu po 6 godzinach od momentu podania 2-DG [2], wskazując na wadliwie funkcjonujący system glukozy-wrażliwych neuronów na terenie OUN w omawianym modelu.

Wszystkie wymienione defekty we wrażliwości neuronów na fluktuacje glukozy bądź jej analogi zaobserwowane u otyłych osobników wynikać mogą z zaburzonej ekspresji genu i/lub białka detektorów glukozy (kanały K_{ATP} , GK, GLUT-2, GLP-1R). U szczurów fa/fa zanotowano wyraźne zmiany w ilości transkryptu GLUT-2, GLP-1R i GK w pniu mózgu oraz MBH, kiedy porównywano je z poziomami u szczurów kontrolnych [9]. Ponadto, u szczurów tych notowano drastycznie obniżoną ilość kanałów potasowych zależnych od ATP [74].

Stwierdzono, że leptyna może regulować funkcje neuronów wrażliwych na glukozę i wykazano, że ich aktywność w części bocznej podwzgórza była wyraźnie hamowana, podczas gdy większość neuronów w brzuszo-przyśrodkowej części (VMH) była pobudzana [81]. Spanswick i wsp. [84] obserwowali hiperpolaryzację neuronów

wrażliwych na glukozę u normalnych szczurów w wyniku aktywacji kanałów potasowych zależnych od ATP, podczas gdy brak było takiej aktywności u szczurów fa/fa [81, 85]. Wyjaśnieniem powyższej sytuacji może być fakt, iż neurony te w modelu fa/fa mają dramatycznie zredukowaną ilość kanałów zależnych od ATP oraz od wapnia, co może decydować o nieprawidłowej odpowiedzi na fluktuacje glukozy u tych zwierząt [74] i ostatecznie może prowadzić do zaburzeń mechanizmów kontrolujących pobieranie pokarmu i homeostazę energetyczną.

INTERAKCJE LEPTYNY Z INSULINĄ

Chociaż przez wiele lat insulinie nie przypisywano szczególnej roli w regulacji zachowań żywieniowych, to obecnie właśnie insulina jest jednym z ważniejszych neuromodulatorów zaangażowanych w regulację pobierania pokarmu oraz homeostazę energetyczną organizmu. Insulina dociera do mózgu z obwodu ciała, ale również może ona być syntetyzowana bezpośrednio w OUN, a jej receptory scharakteryzowano w wielu rejonach mózgu, również tych bezpośrednio zaangażowanych w regulację pobierania pokarmu [31].

Insulina wykazuje zbliżone do leptyny działanie na terenie podwzgórza, a mianowicie w podobny sposób wpływa na zachowania żywieniowe oraz podobnie reguluje syntezę i wydzielanie NPY. Chroniczne mikroinfuzje insuliny do obszarów podwzgórza lub do trzeciej komory mózgu hamują ilość spożywanego pokarmu oraz redukują masę ciała u naczelnych i gryzoni [78]. Z drugiej zaś strony, iniekcje przeciwciał anty-insulinowych bezpośrednio do VMH lub zastosowanie nowocześniejszych metod mających na celu zablokowanie funkcji receptorów insulinowych na przykład u myszy NIRKO (*neuron specific insulin receptor knockout*) prowadzi do hyperfagii, otyłości i rozwoju oporności na insulinę [10, 69]. Ponadto, koncentracje insuliny w mózgu obniżają się, gdy zwierzęta są głodzone bądź otrzymują dietę niskoenergetyczną lub wysokotłuszczową, zaś podwyższają się po spożyciu pokarmu zbilansowanego lub wysokowęglowodanowego.

Od momentu wykrycia leptyny wielu autorów podjęło się badań mających na celu określenie interakcji pomiędzy leptyną a insuliną. Dziś dokładnie wiadomo, że istnieją zależności pomiędzy tymi dwoma hormonami. Myszy ob/ob pozbawione leptyny charakteryzują się opornością na insulinę, którą można dość łatwo zmniejszyć po podaniu egzogennej leptyny [33]. Z kolei u szczurów fa/fa Zucker, które charakteryzują się podwyższonym poziomem leptyny we krwi, obserwuje się również wysoki poziom insuliny oraz wyraźnie zredukowaną wrażliwość na nią. W tym jednak modelu otyłości, podobnie jak w otyłości indukowanej przez wysokotłuszczową dietę u psów [41, możemy mieć do czynienia z upośledzonym transportem insuliny przez barierę krew-mózg, która analogicznie jak leptyna dociera do struktur OUN w drodze wysycającego się transportu. Ponadto, u genetycznie otyłych osobników, takich jak myszy ob/ob czy szczury fa/fa, obserwuje się zaburzenia w sekrecji insuliny na terenie OUN, co objawia się redukcją poziomu insuliny oraz jej receptorów na terenie mózgu [5]. Fundamentalnym jednak

dowodem, że insulina i leptyna wzajemnie uczestniczą w regulacji zachowań żywieniowych na terenie podwzgórza świadczy fakt, że istnieje interakcja (*cross-talk*) pomiędzy dwoma szlakami przekazywania sygnału wewnątrz komórki [13]. Nawet możliwe jest, że leptyna i insulina po związaniu z receptorem korzystają z tych samych wewnątrzkomórkowych przekaźników informacji [109]. Zaburzenia w transdukcji sygnału od receptora leptyny/insuliny przyczynić się mogą do powstania oporności na oba hormony w omawianym modelu fa/fa.

INTERAKCJE LEPTYNY Z NEUROPEPTYDEM Y

Neuropeptyd Y należy do czynników dobrze znanych i bardzo intensywnie badanych na przestrzeni ostatnich lat, który wspólnie z leptyną jest zaangażowany w kontrolę pobierania pokarmu i homeostazy energetycznej organizmu. Wielokrotnie podkreślano rolę neuropeptydu Y i leptyny w rozwoju otyłości u ludzi i zwierząt [99]. Obecnie znany jest pogląd, że leptyna jako endogenne inhibitory NPY [4] pełni swoją funkcję w sposób upośledzony u szczurów fa/fa. Receptory leptyny są obecne na NPY-ergicznych neuronach zlokalizowanych w podwzgórzu [61], a ich defekt w wewnątrzkomórkowej transdukcji sygnału u szczurów fa/fa prowadzi do niewrażliwości neuronów NPY-ergicznych na leptynę. W ten sposób wyższy poziom NPY w mózgu szczurów fa/fa, spowodowany niedostatecznie hamującym wpływem leptyny, może przyczynić się do zwiększonego pobierania pokarmu. Istotnie, badania wykazują brak wpływu leptyny podawanej do mózgu na aktywność NPY u otyłych szczurów fa/fa w porównaniu z grupą kontrolną [54]. Podwyższone koncentracje NPY obserwowane były w wielu obszarach mózgu, takich jak: jądro łukowate (ARC), przykomorowe (PVN) i skrzyżowania wzrokowego (SCN) oraz środkowy obszar pola przedwzrokowego (POA) [76], które zaangażowane są w regulację pobierania pokarmu i energetyczną homeostazę organizmu.

Dotychczas zidentyfikowano pięć rodzajów receptora NPY (NPYR-Y1-Y5) w mózgu gryzoni [38]. Badania sugerują znaczenie różnych podtypów receptora NPY w rozwoju otyłości. Liczne doniesienia wskazują, że receptor R-Y5 jest najważniejszym „receptorem żywieniowym” pośredniczącym w oreksygenym wpływie NPY [21], a zmiany w poziomie jego ekspresji mogą mieć poważne konsekwencje. Podanie silnego i selektywnego antagonisty receptora R-Y5 obniża hiperfagię, przyrost masy ciała oraz masy tłuszczowej u otyłych szczurów Zucker [22]. Istnieją również dane podkreślające udział innego z receptorów, a mianowicie izoformy – Y1 [21]. Myszy transgeniczne pozbawione tego receptora wykazywały umiarkowaną hiperinsulinemię oraz zwiększoną masę ciała i tkanki tłuszczowej, choć nie wykazywały hiperfagii. Z kolei inaktywacja receptorów R-Y2 prowadziła do zwiększonego pobierania pokarmu oraz podwyższonej masy ciała i nasilonego gromadzenia tkanki tłuszczowej [67].

Powyższe eksperymenty wskazują, że zakłócenia na poziomie receptora NPY mogą przyczyniać się do nadmiernego pobierania pokarmu i zaburzeń masy ciała u gryzoni. Istnieją dowody, że otyłe szczury fa/fa mają zaburzenia w funkcjonowaniu receptorów NPY w podwzgórzu. Podczas gdy poziom mRNA dla NPY jest wyraźnie zwiększony w mózgu szczurów fa/fa, ekspresja receptorów R-Y1 i/lub R-Y5 jest mocno zredukowana [6], wskazując na redukcję ilości (*down-regulation*) receptorów NPY po nadmiernej sekrecji neuropeptydu Y. W rezultacie taka sekwencja wydarzeń wydaje się zaburzać pobieranie pokarmu u szczurów fa/fa prowadząc do zachwiania równowagi energetycznej organizmu.

INTERAKCJE LEPTYNY Z SYSTEMEM MELANOKORTYNY

Istotną grupą czynników kontrolujących pobieranie pokarmu i masę ciała są melanokortyny, które stanowią grupę hormonów peptydowych pochodzących z prekursora – proopiomelanokortyny (POMC). Najważniejszym hormonem z tej grupy zaangażowanym w kontrolę pobierania pokarmu jest α -MSH. Obecnie wiadomo, że melanokortyna syntetyzowana na terenie OUN moduluje apetyt, masę ciała i wydatkowanie energii przez organizm [37, 45]. Ten efekt jest wywołany oddziaływaniem poprzez specyficzne receptory błonowe. Dotychczas zidentyfikowano pięć rodzajów receptorów dla α -MSH określanych jako MC1-MC5, z których dwa – MC3 i MC4 – zlokalizowane w jądrach podwzgórza zaangażowane są w kontrolę pobierania pokarmu i homeostazę energetyczną organizmu [63]. Badania sugerują, że melanokortyna w podwzgórzu jest bezpośrednio aktywowana przez leptynę. W jądrze łukowatym około 30% POMC-ergicznych neuronów wykazuje ekspresję długiej formy receptora leptyny OB-Rb [15]. Ponadto, zwiększone spożywanie pokarmu lub podanie leptyny podnosiło poziom mRNA dla POMC [79], podczas gdy zmniejszona ekspresja POMC była obserwowana przy ograniczonym karmieniu bądź u osobników z defektem genu kodującego leptynę lub receptor leptyny, takich jak myszy ob/ob i db/db, bądź szczurów fa/fa [48, 62].

Zaburzone korelacje pomiędzy melanokortyną i leptyną i/lub defekty receptora melanokortyny na poziomie OUN u szczurów fa/fa mogą przyczyniać się do rozwoju otyłości w omawianym modelu. Hwa i wsp. [37] sugerują, że otyłe szczury Zucker mają obniżoną aktywność melanokortyny w mózgu w porównaniu z grupą kontrolną. Podanie agonisty receptora melanokortyny do OUN jest bardziej efektywne u otyłych osobników niż zastosowanie antagonisty tych receptorów [37]. Zaburzona koordynacja pomiędzy melanokortyną i leptyną, jaką obserwuje się u szczurów fa/fa, może przyczyniać się do redukcji ekspresji genu dla POMC i α -MSH w ARC i PVN [45] lub w podstawno-przyśrodkowej części podwzgórza (MBH) [47, 48].

Melanokortyna ma endogennego antagonistę – podwzgórzowe białko agouti (AgRP, *agouti-related protein*), którego ekspresję stwierdzono w neuronach NPY-ergicznych zlokalizowanych w jądrze łukowatym [24]. Badania wskazują, że AGRP

funkcjonuje jako antagonist receptorów MC3 i/lub MC4 oraz pełni ważną funkcję w utrzymaniu prawidłowej masy ciała. Obok stymulującego wpływu na pobieranie pokarmu, peptyd AgRP może odwracać indukowane leptyną hamowanie pobierania pokarmu [1, 27]. Wiele badań wskazuje, że u osobników z defektem genu leptyny (myszy ob/ob) lub receptora leptyny (myszy db/db) obserwuje się podwyższoną ekspresję mRNA dla AGRP w podwzgórzu w porównaniu z grupą kontrolną [26, 70, 82]. Wprawdzie nie ma dostępnej literatury opisującej zmiany w aktywności AgRP u szczurów fa/fa, ale można domniemywać na podstawie innych badań prowadzonych na otyłych gryzoniach (myszy ob/ob i db/db), że takie zaburzenia występują również u szczurów fa/fa szczepu Zucker.

INTERAKCJE LEPTYNY Z PEPTYDEM CART

Peptyd CART (transkrypt regulowany przez kokainę i amfetaminę) jest kolejnym ważnym, stosunkowo niedawno poznanym czynnikiem, który wspólnie z leptyną jest zaangażowany w regulację pobierania pokarmu na poziomie OUN [60, 65]. Obecnie wiadomo, że peptyd CART należy do anoreksygenów i bezpośrednio reguluje zachowania żywieniowe oraz homeostazę energetyczną organizmu, a mutacje wykrywane w genie kodującym ten peptyd powodują zwykle zaburzenia masy ciała i rozwój otyłości u zwierząt [3] i ludzi [36, 52, 103]. Ekspresję mRNA peptydu CART zlokalizowano w regionach mózgu bezpośrednio zaangażowanych w regulację pobierania pokarmu [28, 29, 50, 51]. Poziom transkryptu drastycznie zmienia się podczas zróżnicowanych warunków żywieniowych. Na przykład, ograniczone żywienie zdecydowanie redukuje ekspresję mRNA CART w jądrach podwzgórza [23, 60], natomiast podanie egzogenego peptydu CART lub jego antagonisty szczurom normalnym oraz fa/fa odpowiednio hamuje lub zwiększa pobieranie pokarmu [53]. W innych badaniach wykazywano, że szczury karmione dietą wysokotłuszczową charakteryzowały się podwyższonym poziomem mRNA dla peptydu CART w jądrze łukowatym (ARC), a dodatkowo ilość transkryptu pozytywnie korelowała z koncentracją leptyny w osoczu [100].

Poziom mRNA dla peptydu CART w podwzgórzu otyłych gryzoni był wyraźnie niższy w porównaniu z grupą zwierząt kontrolnych, natomiast obwodowe podanie im leptyny zwiększało ekspresję genu [51]. Ponadto, mRNA peptydu CART w jądrze łukowatym oraz koncentracja leptyny w osoczu były zredukowane w zwierzęcym modelu anoreksji [40]. Obecnie nie potwierdzono, czy neurony CART-ergiczne, zlokalizowane głównie w obszarach zaangażowanych w pobieranie pokarmu, mają receptory dla leptyny, ale interesujący wydaje się fakt, że wszystkie neurony CART-ergiczne w jądrze łukowatym wykazują ekspresję POMC [28]. Ponieważ większość neuronów POMC-ergicznych w podwzgórzu charakteryzuje obecność mRNA dla receptorów leptyny [15], można wnioskować, że istnieje korelacja pomiędzy tymi peptydami na terenie podwzgórza. Jak wskazują ostatnie badania, tylko neurony

POMC-ergiczne w pniu mózgu nie wykazują ko-ekspresji z peptydem CART, pomimo że charakteryzuje je wspólna ko-lokalizacja z receptorami leptyny [30].

Uzasadniona wydaje się więc sugestia, że peptyd CART uczestniczy w działaniu leptyny na poziomie OUN, głównie podwzgórza, poprzez pośredni i/lub bezpośredni udział w regulacji pobierania pokarmu i homeostazy energetycznej organizmu. Natomiast dysfunkcje receptora leptyny mogą powodować zaburzenia ekspresji peptydu CART, co w konsekwencji może przyczyniać się do rozwoju otyłości w modelu fa/fa.

INTERAKCJE LEPTYNY Z OREKSYNAMI

Oreksyny (ORX) odkryte w 1998 stanowią kolejną grupę czynników zaangażowanych w kontrolę pobierania pokarmu i masy ciała [8, 75] oraz w działanie leptyny na terenie OUN [110]. Dwie formy oreksyn (A i B) są syntetyzowane z prekursora preprooreksyny w neuronach zlokalizowanych w części bocznej podwzgórza, jądrze łukowatym czy jądrze nadwzrokowym [93]. Liczne dowody wskazują, że podawanie oreksyn lub ich antagonistów bezpośrednio do mózgu lub części bocznej podwzgórza odpowiednio stymulują lub hamują pobieranie pokarmu [34, 39, 102]. Ponadto, przedłużone głodzenie zwierząt podwyższa poziom mRNA dla preprooreksyn i oreksyn [12]. Wykazano, że oreksyno-ergiczne neurony współdziałają z wieloma innymi systemami regulującymi pobieranie pokarmu, takimi jak: leptyna, NPY/AgRP i POMC/CART [28, 35, 64, 94]. Dostępne dane wykazują jednak, że tylko oreksyna A jest najważniejszym regulatorem pobierania pokarmu, ale dużo mniej skutecznym niż NPY. Świadczy o tym fakt, że chroniczne podawanie oreksyny bezpośrednio do komory mózgu wpływa na ilość pobieranego pokarmu, ale nie prowadzi do otyłości, jak dzieje się to w przypadku podawania NPY [105].

Słuszny wydaje się pogląd, że oreksyna, choć może w mniejszym stopniu niż NPY, odpowiedzialna jest za rozwój zaburzeń w mechanizmach kontrolujących pobieranie pokarmu na poziomie OUN obserwowanych u osobników z mutacją genu leptyny lub receptora leptyny, ponieważ większość neuronów oreksyno-ergicznych charakteryzowanych w mózgu zdrowych zwierząt ma funkcjonalne receptory leptyny OB-Rb [32]. Ponadto, podanie leptyny do OUN istotnie obniża ekspresję oreksyn u normalnych osobników [7].

Badania wskazują, że ekspresja mRNA dla oreksyn lub preprooreksyn jest wyraźnie obniżona u myszy ob/ob i db/db oraz szczurów fa/fa [6, 12, 104]. Należy jednak dodać, że dostępne są również prace, w których nie stwierdzono obniżenia ekspresji mRNA dla oreksyn lub wykazano nawet jej wzrost [12, 87]. Powyższe dane sugerują, że udział ORX w rozwoju otyłości u gryzoni nie jest dokładnie poznany i wymaga dalszych badań. Ponadto, nie jest jasne, dlaczego poziomy mRNA dla preprooreksyn lub oreksyn, które, jak się przyjmuje, stymulują pobieranie pokarmu, są obniżone w zwierzęcym modelu otyłości. Należałoby się spodziewać, że u otyłych zwierząt z mutacją w genie kodującym leptynę lub jej receptor, poziom podwzgórzo-

wego mRNA dla ORX powinien być podwyższony, podobnie jak to dzieje się z innym czynnikiem oreksygenym – neuropeptydem NPY. Beck i wsp. [6] sugerują, że te dwa neuropeptydy, choć wykazują ten sam stymulujący efekt na ilość pobieranego pokarmu, podlegają różnej regulacji na terenie OUN. Gdy ekspresja mRNA dla NPY jest znacznie podwyższona u szczurów fa/fa, wtedy ilość receptorów (R-Y1 i -Y5) dla tego neuropeptydu jest obniżona [12]. Natomiast odwrotna sytuacja jest z oreksynami. Podczas gdy ilość mRNA dla oreksyn jest wyraźnie obniżona w strukturach OUN u osobników otyłych, to ilość receptorów wyraźnie zwiększa się. Wynika z tego, że różne czynniki/hormony regulują ekspresję obu peptydów i jak sugerują niektórzy autorzy, leptyna może aktywować NPY, a oreksyny mogą być pobudzane na przykład przez glukozę [6].

PODSUMOWANIE

W prezentowanej pracy scharakteryzowano szereg mechanizmów na poziomie ośrodkowego układu nerwowego kontrolujących pobieranie pokarmu w aspekcie roli leptyny. Obecnie wiadomo, że leptyna pełni ważną funkcję ogniwa łączącego obwodowy magazyn energii, jakim jest tkanka tłuszczowa, z podwzgórzowym ośrodkiem odpowiedzialnym za pobieranie pokarmu i utrzymanie homeostazy energetycznej. Leptyna wykazuje silne interakcje z wieloma systemami neurohormonalnymi na poziomie OUN, dlatego niezwykle ważne jest prawidłowe jej wydzielanie, jak również prawidłowe działanie na poziomie receptora. Wszelkie dysfunkcje w genie kodującym receptor leptyny obserwowane u szczurów fa/fa mogą mieć poważne konsekwencje, widoczne w postaci zaburzeń na poziomie ośrodkowego układu nerwowego, prowadzące w rezultacie do rozwoju otyłości. Ma to szczególne znaczenie w czasach współczesnych, w których z powodu coraz większej ilości przypadków zaburzeń w regulacji pobierania pokarmu wzrasta liczba osób z nadwagą i otyłością. Należy jednak dodać, że całościowe poznanie fizjologicznej roli leptyny w organizmie wymaga kolejnych badań w zakresie nie tylko jej różnorodnych funkcji, ale także interakcji z innymi systemami hormonalnymi.

PODZIĘKOWANIE

Autorzy serdecznie dziękują Pani Profesor dr hab. Jadwidze Przała za cenne wskazówki podczas redagowania pracy.

LITERATURA

- [1] ABBOTT CR, ROSSI M, WREN AM, MURPHY KG, KENNEDY AR, STANLEY SA, ZOLLNER AN, MORGAN DG, MORGAN I, GHATEI MA, SMALL CJ, BLOOM SR. Evidence of an orexigenic role for cocaine- and amphetamine-regulated transcript after administration into discrete hypothalamic nuclei. *Endocrinology* 2001; **142**: 3457–3463.

- [2] ALLARS J, YORK DA. The effects of 2-deoxy-D-glucose on brown adipose tissue of lean and obese Zucker rats. *Int J Obes* 1986; **10**: 147–158.
- [3] ASNICAR MA, SMITH DP, YANG DD, HEIMAN ML, FOX N, CHEN YF, HSIUNG HM, KOSTER A. Absence of cocaine- and amphetamine-regulated transcript results in obesity in mice fed a high caloric diet. *Endocrinology* 2001; **142**: 4394–4400.
- [4] BASKIN DG, SCHWARTZ MW, SEELEY RJ, WOODS SC, PORTE D JR, BREININGER JF, JONAK Z, SCHAEFER J, KROUSE M, BURGHARDT C, CAMPFIELD LA, BURN P, KOCHAN JP. Leptin receptor long-form splice-variant protein expression in neuron cell bodies of the brain and co-localization with neuropeptide Y mRNA in the arcuate nucleus. *J Histochem Cytochem* 1999; **47**: 353–362.
- [5] BASKIN DG, STEIN LJ, IKEDA H, WOODS SC, FIGLEWICZ DP, PORTE D JR, GREENWOOD MR, DORSA DM. Genetically obese Zucker rats have abnormally low brain insulin content. *Life Sci* 1985; **36**: 627–633.
- [6] BECK B, RICHY S, DIMITROV T, STRICKER-KRONGRAD A. Opposite regulation of hypothalamic orexin and neuropeptide Y receptors and peptide expressions in obese Zucker rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; **286**: 518–523.
- [7] BECK B, RICHY S. Hypothalamic hypocretin/orexin and neuropeptide Y: divergent interaction with energy depletion and leptin. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; **258**: 119–122.
- [8] BÉLTOWSKI J. Oreksyny (hipokretyny) – nowe neuropeptydy regulujące łaknienie oraz rytm snu i czuwania. *Endokrynol Pol* 2000; **51**: 423–428.
- [9] BOGACKA I, ROANE DS, XI X, ZHOU J, LI B, RYAN DH, MARTIN RJ. Expression levels of genes likely involved in glucose-sensing in the obese Zucker rat brain. *Nutr Neurosci* 2004; **7**: 67–74.
- [10] BRUNING JC, GAUTAM D, BURKS DJ, GILLETTE J, SCHUBERT M, ORBAN PC, KLEIN R, KRONE W, MULLER-WIELAND D, KAHN CR. Role of brain insulin receptor in control of body weight and reproduction. *Science* 2000; **289**: 2122–2125.
- [11] BURGUERA B, COUCE ME, CURRAN GL, JENSEN MD, LLOYD RV, CLEARY MP, PODUSLO JF. Obesity is associated with a decreased leptin transport across the blood-brain barrier in rats. *Diabetes* 2000; **49**: 1219–1223.
- [12] CAI XJ, LISTER CA, BUCKINGHAM RE, PICKAVANCE L, WILDING J, ARCH JR, WILSON S, WILLIAMS G. Down-regulation of orexin gene expression by severe obesity in the rats: studies in Zucker fatty and Zucker diabetic fatty rats and effects of rosiglitazone. *Brain Res Mol Brain Res* 2000; **77**: 131–137.
- [13] CARVALHEIRA JB, SILOTO RM, IGNACCHITTI I, BRENELLI SL, CARVALHO CR, LEITE A, VELLOSO LA, GONTIJO JA, SAAD MJ. Insulin modulates leptin-induced STAT3 activation in rat hypothalamus. *FEBS Lett* 2001; **500**: 119–124.
- [14] CHEN H, CHARLAT O, TARTAGLIA LA, WOOLF EA, WENG X, ELLIS SJ, LAKEY ND, CULPEPPER J, MOORE KJ, BREITBART RE, DUYK GM, TEPPER RI, MORGENSTERN JP. Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell* 1996; **84**: 491–495.
- [15] CHEUNG CC, CLIFTON DK, STEINER RA. Proopiomelanocortin neurons are direct targets for leptin in the hypothalamus. *Endocrinology* 1997; **138**: 4489–4492.
- [16] CHUA SC JR, CHUNG WK, WU-PENG XS, ZHANG Y, LIU SM, TARTAGLIA L, LEIBEL RL. Phenotypes of mouse diabetes and rat fatty due to mutations in the OB (leptin) receptor. *Science* 1996; **271**: 994–996.
- [17] CHUNG WK, POWER-KEHOE L, CHUA M, LEIBEL RL. Mapping of the OB receptor to 1p in a region of nonconserved gene order from mouse and rat to human. *Genome Research* 1996; **6**: 431–438.
- [18] CONSIDINE RV, CARO JF. Leptin and the regulation of body weight. *J Biochem Cell Biol* 1997; **29**: 1255–1272.
- [19] CROUSE JA, ELLIOTT GE, BURGESS TL, CHIU L, BENNETT L, MOORE J, NICOLSON M, PACIFICI RE. Altered cell surface expression and signaling of leptin receptors containing the fatty mutation. *J Biol Chem* 1998; **273**: 18365–18373.
- [20] CUSIN I, ROHNER-JEANRENAUD F, STRICKER-KRONGRAD A, JEANRENAUD B. The weight-reducing effect of an intracerebroventricular bolus injection of leptin in genetically obese fa/fa rats. Reduced sensitivity compared with lean animals. *Diabetes* 1996; **45**: 1446–1450.
- [21] DANIELS AJ, CHANCE WT, GRIZZLE MK, HEYER D, MATTHEWS JE. Food intake inhibition and reduction in body weight gain in rats treated with GI264879A, a non-selective NPY-Y1 receptor antagonist. *Peptides* 2001; **22**: 483–491.
- [22] DANIELS AJ, GRIZZLE MK, WIARD RP, MATTHEWS JE, HEYER D. Food intake inhibition and reduction in body weight gain in lean and obese rodents treated with GW438014A, a potent and selective NPY-Y5 receptor antagonist. *Regul Pept* 2002; **106**: 47–54.

- [23] DAVIDOWA H, LI Y, PLAGEMANN A. The main effect of cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) peptide on hypothalamic neuronal activity depends on the nutritional state of rats. *Neuro Endocrinol Lett* 2005; **26**: 29–34.
- [24] DHILLO WS, SMALL CJ, STANLEY SA, JETHWA PH, SEAL LJ, MURPHY KG, GHATEI MA, BLOOM SR. Hypothalamic interactions between neuropeptide Y, agouti-related protein, cocaine- and amphetamine-regulated transcript and alpha-melanocyte-stimulating hormone *in vitro* in male rats. *J Neuroendocrinol* 2002; **14**: 725–730.
- [25] DOYLE P, ROHNER-JEANRENAUD F, JEANRENAUD B. Local cerebral glucose utilization in brains of lean and genetically obese (fa/fa) rats. *Am J Physiol* 1993; **264**: E29–36.
- [26] DUNBAR J, LAPANOWSKI K, BARNES M, RAFOLS J. Hypothalamic agouti-related protein immunoreactivity in food-restricted, obese, and insulin-treated animals: evidence for glia cell localization. *Exp Neurol* 2005; **191**: 184–192.
- [27] EBIHARA K, OGAWA Y, KATSUURA G, NUMATA Y, MASUZAKI H, SATOH N, TAMAKI M, YOSHIOKA T, HAYASE M, MATSUOKA N, AIZAWA-ABE M, YOSHIMASA Y, NAKAO K. Involvement of agouti-related protein, an endogenous antagonist of hypothalamic melanocortin receptor, in leptin action. *Diabetes* 1999; **48**: 2028–2033.
- [28] ELIAS CF, LEE C, KELLY J, ASCHKENASI C, AHIMA RS, COUCEYRO PR, KUHAR MJ, SAPER CB, ELMQUIST JK. Leptin activates hypothalamic CART neurons projecting to the spinal cord. *Neuron* 1998; **21**: 1375–1385.
- [29] ELIAS CF, LEE CE, KELLY JF, AHIMA RS, KUHAR M, SAPER CB, ELMQUIST JK. Characterization of CART neurons in the rat and human hypothalamus. *J Comp Neurol* 2001; **432**: 1–19.
- [30] ELLACOTT KL, HALATCHEV IG, CONE RD. Characterization of leptin-responsive neurons in the caudal brainstem. *Endocrinology* 2006; **147**: 3190–3195.
- [31] GEROZISSIS K. Brain insulin: regulation, mechanisms of action and functions. *Cell Mol Neurobiol* 2003; **23**: 1–25.
- [32] HAKANSSON M, DE LECEA L, SUTCLIFFE JG, MEISTER B. Leptin receptor- and STAT3-immunoreactivities in hypocretin/orexin neurones of the lateral hypothalamus. *J Neuroendocrinol* 1999; **11**: 653–663.
- [33] HARRIS RB, ZHOU J, REDMANN SM JR, SMAGIN GN, SMITH SR, RODGERS E, ZACHWIEJA JJ. A leptin dose-response study in obese (ob/ob) and lean (+/?) mice. *Endocrinology* 1998; **139**: 8–19.
- [34] HAYNES AC, JACKSON B, CHAPMAN H, TADAYYON M, JOHNS A, PORTER RA, ARCH JR. A selective orexin-1 receptor antagonist reduces food consumption in male and female rats. *Regul Pept* 2000; **96**: 45–51.
- [35] HoRVATH TL, DIANO S, VAN DEN POL AN. Synaptic interaction between hypocretin (orexin) and neuropeptide Y cells in the rodent and primate hypothalamus: a novel circuit implicated in metabolic and endocrine regulations. *J Neurosci* 1999; **19**: 1072–1087.
- [36] HUNTER RG, PHILPOT K, VICENTIC A, DOMINGUEZ G, HUBERT GW, KUHAR MJ. CART in feeding and obesity. *Trends Endocrinol Metab* 2004; **15**: 454–459.
- [37] HWA JJ, GHIBAUDI L, GAO J, PARKER EM. Central melanocortin system modulates energy intake and expenditure of obese and lean Zucker rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001; **281**: R444–451.
- [38] INUI A. Neuropeptide Y feeding receptors: are multiple subtypes involved? *TIPS* 1999; **20**: 43–46.
- [39] ISHII Y, BLUNDELL JE, HALFORD JC, UPTON N, PORTER R, JOHNS A, JEFFREY P, SUMMERFIELD S, RODGERS RJ. Anorexia and weight loss in male rats 24 h following single dose treatment with orexin-1 receptor antagonist SB-334867. *Behav Brain Res* 2005; **157**: 331–341.
- [40] JOHANSEN JE, BROBERGER C, LAVEBRATT C, JOHANSSON C, KUHAR MJ, HOKFELT T, SCHALLING M. Hypothalamic CART and serum leptin levels are reduced in the anorectic (anx/anx) mouse. *Brain Res Mol Brain Res* 2000; **84**: 97–105.
- [41] KAIYALA KJ, PRIGEON RL, KAHN SE, WOODS SC, SCHWARTZ MW. Obesity induced by a high-fat diet is associated with reduced brain insulin transport in dogs. *Diabetes* 2000; **49**: 1525–1533.
- [42] KANG L, DUNN-MEYNELL AA, ROUTH VH, GASPERS LD, NAGATA Y, NISHIMURA T, EIKI J, ZHANG BB, LEVIN BE. Glucokinase is a critical regulator of ventromedial hypothalamic neuronal glucosensing. *Diabetes* 2006; **55**: 412–420. Erratum in: *Diabetes* 2006; **55**: 862.
- [43] KASTIN AJ, PAN W, MANESS LM, KOLETSKY RJ, ERNSBERGER P. Decreased transport of leptin across the blood-brain barrier in rats lacking the short form of the leptin receptor. *Peptides* 1999; **20**: 1449–1453.
- [44] KELLERER M, LAMMERS R, FRITSCH A, STRACK V, MACHICAO F, BORBONIP, ULLRICH A, HARING HU. Insulin inhibits leptin receptor signalling in HEK293 cells at the level of janus kinase-2: a potential mechanism for hyperinsulinaemia-associated leptin resistance. *Diabetologia* 2001; **44**: 1125–1132.

- [45] KIM EM, O'HARE E, GRACE MK, WELCH CC, BILLINGTON CJ, LEVINE AS. ARC POMC mRNA and PVN alpha-MSH are lower in obese relative to lean Zucker rats. *Brain Res* 2000; **862**:11–16.
- [46] KOCHAN Z, KARBOŃSKA J. Wydzielnicza funkcja tkanki tłuszczowej. *Post Biochem* 2004; **50**: 256–270.
- [47] KORNER J, CHUA SC JR, WILLIAMS JA, LEIBEL RL, WARDLAW SL. Regulation of hypothalamic proopiomelanocortin by leptin in lean and obese rats. *Neuroendocrinology* 1999; **70**: 377–383.
- [48] KORNER J, SAVONTAUS E, CHUA SC JR, LEIBEL RL, WARDLAW SL. Leptin regulation of Agrp and Npy mRNA in the rat hypothalamus. *J Neuroendocrinol* 2001; **13**: 959–966.
- [49] KORNER J, WARDLAW SL, LIU SM, CONWELL IM, LEIBEL RL, CHUA SC JR. Effects of leptin receptor mutation on Agrp gene expression in fed and fasted lean and obese (LA/N-faf) rats. *Endocrinology* 2000; **141**: 2465–2471.
- [50] KOYLU EO, COUCEYRO PR, LAMBERT PD, KUHAR MJ. Cocaine- and amphetamine-regulated transcript peptide immunohistochemical localization in the rat brain. *J Comp Neurol* 1998; **391**: 115–132.
- [51] KRISTENSEN P, JUDGE ME, THIM L, RIBEL U, CHRISTJANSEN KN, WULFF BS, CLAUSEN JT, JENSEN PB, MADSEN OD, VRANG N, LARSEN PJ, HASTRUP S. Hypothalamic CART is a new anorectic peptide regulated by leptin. *Nature* 1998; **393**: 72–76.
- [52] LARSEN PJ, HUNTER RG. The role of CART in body weight homeostasis. *Peptides* 2006; **27**: 1981–1986.
- [53] LARSEN PJ, VRANG N, PETERSEN PC, KRISTENSEN P. Chronic intracerebroventricular administration of recombinant CART(42-89) peptide inhibits and causes weight loss in lean and obese Zucker (fa/fa) rats. *Obes Res* 2000; **8**: 590–596.
- [54] LEE J, MORRIS MJ. Modulation of neuropeptide Y overflow by leptin in the rat hypothalamus, cerebral cortex and medulla. *Neuroreport* 1998; **9**: 1575–1580.
- [55] LEVIN BE, DUNN-MEYNELL AA, ROUTH VH. Brain glucosensing and the K(ATP) channel. *Nat Neurosci* 2001; **4**: 459–460.
- [56] LEVIN BE, DUNN-MEYNELL AA, ROUTH VH. CNS sensing and regulation of peripheral glucose levels. *Int Rev Neurobiol* 2002; **51**: 219–258.
- [57] LEVIN BE, ROUTH VH, KANG L, SANDERS NM, DUNN-MEYNELL AA. Neuronal glucosensing: what do we know after 50 years? *Diabetes* 2004; **53**: 2521–2528.
- [58] LYNCH RM, TOMPKINS LS, BROOKS HL, DUNN-MEYNELL AA, LEVIN BE. Localization of glucokinase gene expression in the rat brain. *Diabetes* 2000; **49**: 693–700.
- [59] MAYER J. Glucostatic mechanism of regulation of food intake. *N Engl J Med* 1953; **249**: 13–16.
- [60] McALISTER ED, VAN VUGT DA. Effect of leptin administration versus re-feeding on hypothalamic neuropeptide gene expression in fasted male rats. *Can J Physiol Pharmacol* 2004; **82**: 1128–1134.
- [61] MERCER JG, HOGGARD N, WILLIAMS LM, LAWRENCE CB, HANNAH LT, MORGAN J, TRAYHURN P. Coexpression of leptin receptor and preproneuropeptide Y mRNA in arcuate nucleus of mouse hypothalamus. *J Neuroendocrinol* 1996; **8**: 733–735.
- [62] MIZUNO TM, KLEOPOULOS SP, BERGEN HT, ROBERTS JL, PRIEST CA, MOBBS CV. Hypothalamic pro-opiomelanocortin mRNA is reduced by fasting and [corrected] in ob/ob and db/db mice, but is stimulated by leptin. *Diabetes* 1998; **47**: 294–297.
- [63] MOUNIEN L, BIZET P, BOUTELET I, VAUDRY H, JEGOU S. Expression of melanocortin MC3 and MC4 receptor mRNAs by neuropeptide Y neurons in the rat arcuate nucleus. *Neuroendocrinology* 2005; **82**: 164–170.
- [64] MUROYA S, FUNAHASHI H, YAMANAKA A, KOHNO D, URAMURA K, NAMBU T, SHIBAHARA M, KURAMOCHI M, TAKIGAWA M, YANAGISAWA M, SAKURAI T, SHIODA S, YADA T. Orexins (hypocretins) directly interact with neuropeptide Y, POMC and glucose-responsive neurons to regulate Ca²⁺ signaling in a reciprocal manner to leptin: orexigenic neuronal pathways in the mediobasal hypothalamus. *Eur J Neurosci* 2004; **19**: 1524–1534.
- [65] MURPHY KG. Dissecting the role of cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) in the control of appetite. *Brief Funct Genomic Proteomic* 2005; **4**: 95–111.
- [66] NAVARRO M, RODRIQUEZ DE FONSECA F, ALVAREZ E, CHOWEN JA, ZUECO JA, GOMEZ R, ENG J, BLAZQUEZ E. Colocalization of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptors, glucose transporter GLUT-2, and glucokinase mRNAs in rat hypothalamic cells: evidence for a role of GLP-1 receptor agonists as an inhibitory signal for food and water intake. *J Neurochem* 1996; **67**: 1982–1991.
- [67] NAVEILHAN P, HASSANI H, CANALS JM, EKSTRAND AJ, LAREFALK A, CHHAJLANI V, ARENAS E, GEDDA K, VENSSON L, THOREN P, ERNFORS P. Normal feeding behavior, body weight and leptin response require the neuropeptide Y Y2 receptor. *Nat Med* 1999; **5**: 1188–1193.

- [68] NOGALSKA A, ŚWIERCZYŃSKI J. Leptyna – hormon o wielu funkcjach. *Post Biochem* 2001; **47**: 200–211.
- [69] OBICI S, FENG Z, KARKANIAS G, BASKIN DG, ROSSETTI L. Decreasing hypothalamic insulin receptors causes hyperphagia and insulin resistance in rats. *Nat Neurosci* 2002; **5**: 566–572.
- [70] OLLMAN MM, WILSON BD, YANG YK, KERNS JA, CHEN Y, GANTZ I, BARSH GS. Antagonism of central melanocortin receptors *in vitro* and *in vivo* by agouti-related protein. *Science* 1999; **278**: 135–138.
- [71] PELLEYMOUNTER MA, CULLEN MJ, BAKER MB, HECHT R, WINTERS D, BOONE T, COLLINS F. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 1995; **269**: 540–543.
- [72] PENICAUD L, LELOUP C, FIORAMONTI X, LORSIGNOL A, BENANI A. Brain glucose sensing: a subtle mechanism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2006; **9**: 458–462.
- [73] ROUTH VH. Glucose-sensing neurons: are they physiologically relevant? *Physiol Behav* 2002; **76**: 403–413.
- [74] ROWE IC, BODEN PR, ASHFORD ML. Potassium channel dysfunction in hypothalamic glucose-receptive neurons of obese Zucker rats. *J Physiol* 1996; **497**: 365–377.
- [75] SAKURAI T. Roles of orexins and orexin receptors in central regulation of feeding behavior and energy homeostasis. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2006; **5**: 313–325.
- [76] SANACORA G, KERSHAW M, FINKELSTEIN JA, WHITE JD. Increased hypothalamic content of preproneuropeptide Y messenger ribonucleic acid in genetically obese Zucker rats and its regulation by food deprivation. *Endocrinology* 1990; **127**: 730–737.
- [77] SCHUIT FC, HUYPENS P, HEIMBERG H, PIPELEERS DG. Glucose sensing in pancreatic beta-cells: a model for the study of other glucose-regulated cells in gut, pancreas, and hypothalamus. *Diabetes* 2001; **50**: 1–11.
- [78] SCHWARTZ MW, FIGLEWICZ DP, WOODS SC, PORTE D JR, BASKIN DG. Insulin, neuropeptide Y, and food intake. *Ann NY Acad Sci* 1993; **692**: 60–71.
- [79] SCHWARTZ MW, SEELEY RJ, WOODS SC, WEIGLE DS, CAMPFIELD LA, BURN P, BASKIN DG. Leptin increases hypothalamic pro-opiomelanocortin mRNA expression in the rostral arcuate nucleus. *Diabetes* 1997; **46**: 2119–2123.
- [80] SEELEY RJ, Van DIJK G, CAMPFIELD LA, SMITH FJ, BURN P, NELLIGAN JA, BELL SM, BASKIN DG, WOODS SC, SCHWARTZ MW. Intraventricular leptin reduces food intake and body weight of lean rats but not obese Zucker rats. *Horm Metab Res* 1996; **28**: 664–668.
- [81] SHIRAIISHI T, SASAKI K, NIJIMA A, OOMURA Y. Leptin effects on feeding-related hypothalamic and peripheral neuronal activities in normal and obese rats. *Nutrition* 1999; **15**: 576–579.
- [82] SHUTTER JR, GRAHAM M, KINSEY AC, SCULLY S, LUTHY R, STARK KL. Hypothalamic expression of ART, a novel gene related to agouti, is up-regulated in obese and diabetic mutant mice. *Genes Dev* 1997; **11**: 593–602.
- [83] SONG Z, LEVIN BE, McARDLE JJ, BAKHOS N, ROUTH VH. Convergence of pre- and postsynaptic influences on glucosensing neurons in the ventromedial hypothalamic nucleus. *Diabetes* 2001; **50**: 2673–2681.
- [84] SPANSWICK D, SMITH MA, GROPPI VE, LOGAN SD, ASHFORD ML. Leptin inhibits hypothalamic neurons by activation of ATP-sensitive potassium channels. *Nature* 1997; **390**: 521–525.
- [85] SPANSWICK D, SMITH MA, MIRSHAMSI S, ROUTH VH, ASHFORD ML. Insulin activates ATP-sensitive K⁺ channels in hypothalamic neurons of lean, but not obese rats. *Nat Neurosci* 2000; **3**: 757–758.
- [86] SZABLEWSKI L. Leptyna i jej rola w regulacji masy ciała. *Post Biol Kom* 1999; **26**: 375–386.
- [87] TAHERI S, GARDINER J, HAFIZI S, MURPHY K, DAKIN C, SEAL L, GHATEI M, BLOOM S. Orexin A immunoreactivity and preproorexin mRNA in the brain of Zucker and WKY rats. *Neuroreport* 2001; **12**: 459–464.
- [88] TAKAYA K, OGAWA Y, HIRAOKA J, HOSODA K, YAMORI Y, NAKAO K, KOLETSKY RJ. Nonsense mutation of leptin receptor in the obese spontaneously hypertensive Koletsky rat. *Nat Genet* 1996; **14**: 130–131.
- [89] TARTAGLIA LA, DEMBSKI M, WENG X, DENG N, CULPEPPER J, DEVOS R, RICHARDS GJ, CAMPFIELD LA, CLARK FT, DEEDS J, MUIR C, SANKER S, MORIARTY A, MOORE KJ, SMUTKO JS, MAYS GG, WOOLF EA, MONROE CA, TEPPER RI. Identification and expression cloning of a leptin receptor, *OB-R*. *Cell* 1995; **83**: 1263–1271.
- [90] THORENS B. GLUT2 in pancreatic and extra-pancreatic gluco-detection (review). *Mol Membr Biol* 2001; **18**: 265–273.
- [91] TRUETT GE, BAHARY N, FRIEDMAN JM, LEIBEL RL. Rat obesity gene fatty (fa) maps to chromosome 5: evidence for homology with the mouse gene diabetes (db). *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; **88**: 7806–7809.

- [92] TURBAN S, HAINAULT I, TRUCCOLO J, ANDRE J, FERRE P, QUIGNARD-BOULANGE A, GUERRE-MILLO M. Specific increase in leptin production in obese (falfa) rat adipose cells. *Biochem J* 2002; **362**: 113–118.
- [93] Van DEN POL AN, PATRYLO PR, GHOSH PK, GAO XB. Lateral hypothalamus: early developmental expression and response to hypocretin (orexin). *J Comp Neurol* 2001; **433**: 349–363.
- [94] Van DEN TOP M, LEE K, WHYMENT AD, BLANKS AM, SPANSWICK D. Orexigen-sensitive NPY/AgRP pacemaker neurons in the hypothalamic arcuate nucleus. *Nat Neurosci* 2004; **7**: 493–494.
- [95] VIRTANEN KA, HAAPARANTA M, GRONROOS T, BERGMAN J, SOLIN O, ROURU J, NUUTILA P, HUUPPONEN R. 2-[(18)F]fluoro-2-deoxy-D-glucose combined with microdialysis can be used for the comparison of tissue glucose metabolism in obese and lean rats. *Diabetes Obes Metab* 2002; **4**: 60–68.
- [96] WALCZEWSKA A. Leptyna – nowy hormon. *Endokrynol Pol* 2000; **51**: 125–148.
- [97] WALCZEWSKA A. Leptyna a rozród. *Post Biol Kom* 2001; **28**, Sup18: 77–85.
- [98] WANG T, HARTZELL DL, FLATT WP, MARTIN RJ, BAILE CA. Responses of lean and obese Zucker rats to centrally administered leptin. *Physiol Behav* 1998; **65**: 333–341.
- [99] WHITE BD, MARTIN RJ. Evidence for a central mechanism of obesity in the Zucker rat: role of neuropeptide Y and leptin. *Proc Soc Exp Biol Med* 1997; **214**: 222–232.
- [100] WORTLEY KE, CHANG GQ, DAVYDOVA Z, FRIED SK, LEIBOWITZ SF. Cocaine- and amphetamine-regulated transcript in the arcuate nucleus stimulates lipid metabolism to control body fat accrual on a high-fat diet. *Regul Pept* 2004; **117**: 89–99.
- [101] WU-PENG XS, CHUA SC JR., OKADA N, LIU SM, NICOLSON M, LEIBEL RL. Phenotype of the obese Koletsky (f) rat due to Tyr763Stop mutation in the extracellular domain of the leptin receptor (Lepr): evidence for deficient plasma-to-CSF transport of leptin in both the Zucker and Koletsky obese rat. *Diabetes* 1997; **46**: 513–518.
- [102] YAMADA H, OKUMURA T, KOBAYASHI Y, KOHGO Y. Inhibition of food intake by central injection of anti-orexin antibody in fasted rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; **267**: 527–531.
- [103] YAMADA K, YUAN X, OTABE S, KOYANAGI A, KOYAMA W, MAKITA Z. Sequencing of the putative promoter region of the cocaine- and amphetamine-regulated-transcript gene and identification of polymorphic sites associated with obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002; **26**: 132–136.
- [104] YAMAMOTO Y, UETA Y, YAMASHITA H, ASAYAMA K, SHIRAHATA A. Expressions of the prepro-orexin and orexin type 2 receptor genes in obese rat. *Peptides* 2002; **23**: 1689–1696.
- [105] YAMANAKA A, KUNII K, NAMBU T, TSUJINO N, SAKAI A, MATSUZAKI I, MIWA Y, GOTO K, SAKURAI T. Orexin-induced food intake involves neuropeptide Y pathway. *Brain Res* 2000; **859**: 404–409.
- [106] YAMASHITA T, MURAKAMI T, IIDA M, KUWAJIMA M, SHIMA K. Leptin receptor of Zucker fatty rat performs reduced signal transduction. *Diabetes* 1997; **46**: 1077–1080.
- [107] YANG XJ, KOW LM, FUNABASHI T, MOBBS CV. Hypothalamic glucose sensor: similarities to and differences from pancreatic beta-cell mechanisms. *Diabetes* 1999; **48**: 1763–1772.
- [108] 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**: 425–432.
- [109] ZHAO AZ, HUAN JN, GUPTA S, PAL R, SAHU A. A phosphatidylinositol 3-kinase phosphodiesterase 3B-cyclic AMP pathway in hypothalamic action of leptin on feeding. *Nat Neurosci* 2002; **5**: 727–728.
- [110] ZHU Y, YAMANAKA A, KUNII K, TSUJINO N, GOTO K, SAKURAI T. Orexin-mediated feeding behavior involves both leptin-sensitive and -insensitive pathways. *Physiol Behav* 2002; **77**: 251–257.

Redaktor prowadzący – Janusz Kubrakiewicz

Otrzymano: 18.09.2006 r.

Przyjęto: 15.01.2007 r.

10-718 Olsztyn, ul. Oczapowskiego 1A

e-mail: iwonab@uwm.edu.pl