



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Sofia Castelhana Lourenço

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Leptin as a new therapeutic approach in obesity, lypodistrophy and depression and its potential use via intranasal administration” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Gisela Maranhão, da Dra. Ana Rocha, da Dra. Isabel Rosete e da Professora Doutora Joana Bicker apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2019

Sofia Castelhana Lourenço

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Leptin as a new therapeutic approach in obesity, lypodistrophy and depression and its potential use via intranasal administration” referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação, da Dra. Gisela Maranhão, Dra. Ana Rocha, Dra. Isabel Rosete e Professora Doutora Joana Bicker apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2019

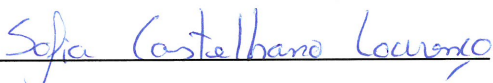


UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Eu, Sofia Castelhana Lourenço, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2014203079, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Leptin as a new therapeutic approach in obesity, lipodistrophy and depression and its potential use via intranasal administration” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 2 de setembro de 2019.



(Sofia Castelhana Lourenço)

Agradecimentos

À minha orientadora interna, Professora Doutora Joana Bicker por toda a ajuda, disponibilidade demonstrada, sugestões e pela excelente orientação durante o caminho que percorri na elaboração da monografia.

À Dra. Gisela Maranhão e a toda a equipa da Farmácia Matilde Soares por todo o auxílio, disponibilidade, carinho e simpatia no decorrer de todo o meu estágio.

À Dra. Ana Rocha e à Dra. Isabel Rosete pela oportunidade de realizar o estágio no Centro Hospitalar do Baixo Vouga e por todo acompanhamento e conhecimentos transmitidos ao longo do meu estágio.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, equipa docente e não docente, por todos os conhecimentos que adquiri, bem como tudo o que pude experienciar ao longo do curso.

Aos meus pais um agradecimento muito especial, pelo apoio incondicional, por todos os valores que me inculcaram e especialmente por todo o amor essencial à minha vida, particularmente neste percurso académico.

À minha irmã, pelo incentivo e pela paciência, a minha mais sincera gratidão.

A toda a minha família, que me ajudou a construir a pessoa que sou hoje.

Aos meus amigos, os de sempre e os que nasceram em Coimbra, que durante estes cinco anos sempre me apoiaram nos bons e maus momentos e estiveram ao meu lado para partilhar as mais belas experiências.

A Deus, por toda a força e esperança.

A Coimbra.

Índice

PARTE I – RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

Abreviaturas.....	9
1. Introdução.....	10
2. Análise SWOT.....	11
2.1 Análise Interna – PONTOS FORTES.....	12
2.1.1 Acompanhamento por parte de toda a equipa de trabalho.....	12
2.1.2 Localização da farmácia e heterogeneidade da população.....	12
2.1.3 Participação nas tarefas de rotina diária da farmácia.....	12
a) Atividade de organização e gestão em farmácia.....	12
b) Atendimento ao público.....	13
I. Dispensa de medicamentos e dispositivos médicos.....	14
II. Dispensa de psicotrópicos e estupefacientes.....	14
2.1.4 Realização de sábados.....	14
2.2 Análise Interna – PONTOS FRACOS.....	15
2.2.1 Grande diversidade de opções para um mesmo produto.....	15
2.2.2 Preparação de manipulados.....	15
2.3 Análise Externa – OPORTUNIDADES.....	15
2.3.1 Formações.....	15
2.3.2 Serviços Farmacêuticos.....	16
2.4 Análise Externa – AMEAÇAS.....	16
2.4.1 Medicamentos esgotados.....	16
2.4.2 Receitas manuais.....	17
3. Conclusão.....	18
Referências Bibliográficas.....	19
Anexos.....	20

PARTE II – RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA HOSPITALAR

Abreviaturas.....	22
1. Introdução.....	23
2. Análise SWOT.....	24
2.1 Análise Interna – PONTOS FORTES.....	25
2.1.1 Ensaio clínico.....	25
2.1.2 Equipa técnica.....	25
2.1.3 Gestão de encomendas e <i>stock</i>	26
2.1.4 Noções de funcionamento das aplicações informáticas.....	27
2.1.5 Novos conhecimentos acerca de fármacos de uso exclusivo hospitalar.....	27
2.1.6 Reembalagem.....	27
2.1.7 Sistema de distribuição de medicamentos.....	28
2.2 Análise Interna – PONTOS FRACOS.....	31
2.2.1 Estágio maioritariamente observacional.....	31
2.2.2 Preparação de manipulados.....	31
2.3 Análise externa – OPORTUNIDADES.....	32
2.3.1 Passagem pelo Unidade de Águeda e Estarreja.....	32
2.3.2 Visita aos serviços clínicos.....	32
2.4 Análise externa – AMEAÇAS.....	33
2.4.1 Duração de estágio.....	33
2.4.2 Preparação de citotóxicos e citostáticos.....	33
3. Conclusão.....	34
Referências Bibliográficas.....	35

PART III – MONOGRAPH “LEPTIN AS A NEW THERAPEUTIC APPROACH IN OBESITY, LYPODISTROPHY AND DEPRESSION AND ITS POTENTIAL USE VIA INTRANASAL ADMINISTRATION”

Abbreviations	37
Abstract.....	39
Resumo.....	40
1. General Introduction.....	41
2. Leptin.....	43
2.1 Mechanism of action.....	43
2.2 Factors regulating leptin synthesis	46
2.3 Physiological functions.....	48
2.4 Access to the central nervous system.....	52
3. Leptins relevance in different pathologies.....	54
3.1 Obesity.....	54
3.2 Lipodystrophy.....	58
3.3 Depression.....	60
4. Intranasal administration of leptin.....	63
5. Conclusion	66
References	67

Índice de Figuras e Tabelas

PARTE I – RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

Tabela 1 - Esquema da análise SWOT.....	11
--	----

PARTE II – RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA HOSPITALAR

Tabela 1 - Esquema da análise SWOT.....	25
--	----

PART III – MONOGRAPH “LEPTIN AS A NEW THERAPEUTIC APPROACH IN OBESITY, LYPODISTROPHY AND DEPRESSION AND ITS POTENTIAL USE VIA INTRANASAL ADMINISTRATION”

Figure 1 - Crystal structure of the human leptin-leptin receptor complex (A) and leptin receptor isoforms (B). LepRa-f have a common extracellular domain but differ in intracellular domains	42
--	----

Figure 2 - Main intracellular pathways activated by the long isoform of leptin receptor.....	44
---	----

Figure 3 - Factors that regulate circulating leptin levels. Factors promoting leptin secretion (A) and factors inhibiting leptin secretion (B).....	46
--	----

Figure 4 - Circadian control of leptin neuroendocrine feedback loop.....	48
---	----

Figure 5 - Mechanisms of leptin access to the central nervous system. Transport across the blood-brain barrier (A) access through circumventricular organs (B) and tanycyte transport (C).....	54
---	----

Figure 6 - Common genetic forms of lipodystrophy. Congenital generalized lipodystrophy (A), congenital generalized lipodystrophy (B) and familial partial lipodystrophy.....	59
---	----

Figure 7 - Role of leptin on hippocampal synaptic plasticity.....	61
--	----

Figure 8 - Leptin’s effect on neurogenesis.	62
---	----

Table 1 - Physiological functions of leptin.....	50
---	----

Table 2 - Strategies to reverse leptin resistance and restore leptin sensitivity.....	57
--	----

PARTE I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia Matilde Soares

Orientado pela Dra. Gisela Maranhão

Abreviaturas

IMC	índice de massa corporal
MNSRM	medicamentos não sujeitos a receita médica
MSRM	medicamentos sujeitos a receita médica
PA	princípio ativo

I. Introdução

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, é um curso de cinco anos, em que no 2º semestre do último ano é concedida a oportunidade de realizar num período de 4 meses um estágio curricular, em farmácia comunitária, o que proporciona a aplicação dos conhecimentos adquiridos ao longo de todo o percurso académico, bem como a oportunidade de enriquecer a nossa formação enquanto estudante. Para além de permitir experienciar o quotidiano de um profissional da área farmacêutica, aprender e desenvolver novas aptidões, e conhecer a realidade da futura profissão.

O farmacêutico é um agente de saúde que tem o dever de executar todas as tarefas que ao medicamento concernem, passando pela manipulação, processo de uso e avaliação dos efeitos do medicamento. Sendo que, a sua primeira e principal responsabilidade é para com a saúde pública, salvaguardando-a (ORDEM DOS FARMACÊUTICOS a).

A farmácia comunitária como ramo profissional das Ciências Farmacêuticas é a que apresenta maior proximidade com o utente, alta empregabilidade e elevada visibilidade. Dada a sua acessibilidade à população, é um setor com uma importância estratégica no sistema de saúde. E caracteriza-se por prestar cuidados de saúde de elevada diferenciação técnico-científica, assumindo um papel preponderante na promoção do uso racional do medicamento (ORDEM DOS FARMACÊUTICOS b).

Por conseguinte, o farmacêutico comunitário é um profissional de saúde de formação avançada que, frequentemente é o primeiro prestador de cuidados de saúde ao qual as pessoas recorrem quando tem um problema, mas, por outro lado, pode também ser o último elo de ligação do utente com um profissional no ramo da saúde antes de iniciar a sua terapêutica. Deste modo, o farmacêutico de oficina cria uma relação de confiança e proximidade com o utente e apresenta competências e conhecimentos abrangentes em diversas áreas para além dos medicamentos, como por exemplo, suplementação, dermofarmácia e cosmética, nutrição, fitoterapia e puericultura, de maneira a proceder a um aconselhamento personalizado e dirigido.

Neste âmbito, realizei o meu estágio curricular em Farmácia Comunitária na Farmácia Matilde Soares, em Mira, durante o período de 7 de janeiro a 20 de abril de 2019, sob orientação da Dra. Gisela Maranhão e de toda a equipa.

2. Análise SWOT

Como solicitado no presente relatório de estágio irei avaliar a minha prestação no estágio curricular em farmácia comunitária, incluir as observações que, no meu entender, valorizaram a minha aprendizagem, bem como analisar as atividades realizadas e as competências e conhecimentos adquiridos no decorrer destes quatro meses. Desta forma, será feita uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*) fundamentada, que contempla uma vertente de análise interna: pontos fortes e pontos fracos, e uma outra vertente de análise externa: oportunidades e ameaças. Neste âmbito, e através desta ferramenta, apresentarei o meu ponto de vista relativamente aos aspetos positivos e negativos bem como às oportunidades e fraquezas vivenciadas por mim ao longo deste estágio e qual o impacto no meu futuro.

De seguida, encontra-se representado na Tabela I um esquema da análise SWOT realizada.

Tabela I – Esquema da análise SWOT

ANÁLISE INTERNA	
PONTOS FORTES	PONTOS FRACOS
<i>Acompanhamento por parte de toda a equipa de trabalho</i>	<i>Grande diversidade de opções para um mesmo produto</i>
<i>Localização da farmácia e heterogeneidade da população</i>	
<i>Participação nas tarefas de rotina diária da farmácia</i> a) <i>Atividade de organização e gestão em farmácia</i> b) <i>Atendimento ao público</i> I. Dispensa de medicamentos e dispositivos médicos II. Dispensa de psicotrópicos e estupefacientes	<i>Preparação de manipulados</i>
<i>Realização de sábados</i>	
ANÁLISE EXTERNA	
OPORTUNIDADES	AMEAÇAS
<i>Formações</i>	<i>Medicamentos esgotados</i>
<i>Serviços Farmacêuticos</i>	<i>Receitas manuais</i>

2.1 Análise Interna – PONTOS FORTES

2.1.1 Acompanhamento por parte de toda a equipa de trabalho

A Farmácia Matilde Soares é constituída por uma equipa de profissionais flexíveis, competentes, experientes, comunicativos e atenciosos, que demonstraram estar sempre disponíveis para todas as minhas dúvidas e incertezas. Foi, sem dúvida, um ponto forte na minha jornada pois fez-me crescer enquanto futura farmacêutica, enriquecendo, assim, os meus conhecimentos técnico-científicos e os meus valores.

2.1.2 Localização da farmácia e heterogeneidade da população

A Farmácia Matilde Soares situa-se paralelamente à nacional 109 na vila de Mira, que por ser uma zona de praia é uma zona turística. Deste modo, além dos clientes habituais e conhecidos, aos quais, tendo em conta o acesso ao histórico do doente, se consegue fazer mais facilmente um acompanhamento farmacoterapêutico direcionado e perceber ou não se há adesão à terapêutica. Há também os clientes turísticos e os que estão apenas de passagem. Sendo assim, a farmácia apresenta uma população bastante heterogénea quanto a fatores socioeconómicos, etários e culturais, o que constituiu um aspeto positivo, uma vez que me permitiu interagir e adaptar consoante as diferentes personalidades e situações.

2.1.3 Participação nas tarefas de rotina diária da farmácia

O dia-a-dia de um farmacêutico comunitário passa pela realização de uma variedade de tarefas, como é o caso das atividades associadas à organização e gestão em farmácia ou o atendimento ao público. Sendo assim, considero que foi um ponto bastante forte ter feito parte do meu plano de estágio a realização destas tarefas que fazem parte da rotina diária numa farmácia comunitária.

a) Atividade de organização e gestão em farmácia

Diariamente na farmácia é necessário proceder ao aprovisionamento, que consiste na receção de encomendas, devolução de produtos aos fornecedores e regularização dessas mesmas devoluções. O processo de receção das encomendas inicia-se com a chegada dos medicamentos e produtos de saúde à farmácia em *backs*, provenientes dos armazéns de distribuição. De seguida, e através da respetiva fatura ou guia de transporte verifica-se se chegaram à farmácia todos os produtos faturados e nas quantidades corretas. Após esta conferência, faz-se o registo de entrada de todos os produtos no sistema informático para que

estes passem a fazer parte do stock da farmácia e é nesta fase que se verifica os prazos de validade dos produtos, os preços faturados pelos laboratórios/distribuidores e os preços a serem aplicados aos utentes. Posteriormente à entrada das encomendas, passa-se para a fase de armazenamento manual, ou seja, a arrumação dos produtos por ordem alfabética numas gavetas deslizantes, nos lineares à vista dos utentes (por exemplo, em caso dos produtos de dermocosmética ou medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM)), no frigorífico (no caso, dos medicamentos de frio) ou no armazém. Para além de que, realiza-se a reposição de existências e a verificação dos prazos de validade, sempre que necessário.

A meu ver todas estas atividades acima referidas proporcionaram-me uma série de aprendizagens. Na medida em que, possibilitou-me uma maior familiarização com o portefólio de produtos em *stock* na farmácia (como por exemplo, medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM), MNSRM, dispositivos médicos, produtos de dermofarmácia e cosmética e veterinária), ajudou-me a correlacionar o princípio ativo com o nome comercial do medicamento, como também me possibilitou conhecer as indicações clínicas e posologias dos MNSRM e outros produtos de saúde. E que, como já sabia o lugar onde estava o produto que pretendia, através do processo de arrumação, durante o atendimento diminuía o tempo de procura. Assim sendo, foi possível compreender a relevância que uma boa organização e gestão do *back office* numa farmácia possibilita um atendimento mais eficiente.

b) Atendimento ao público

Diariamente, as pessoas deslocam-se à farmácia com o objetivo de satisfazer de algum modo as suas necessidades de saúde. Muitas das vezes, os utentes deslocam-se orientados por uma prescrição médica manual, eletrónica materializada ou eletrónica desmaterializada (receitas sem papel). Sendo que, os restantes utentes procuram a resolução para um problema menos grave evitando assim, a deslocação ao médico ou então um aconselhamento por parte do farmacêutico, no caso de dermocosmética, veterinária, fitoterapia, entre outros. Apesar de que, independentemente da situação pelo qual o utente se deslocou à farmácia este procura sempre um aconselhamento personalizado e dinâmico. Deste modo, é muito importante que o farmacêutico ouça sempre atentamente o utente, esclareça todas as suas dúvidas e consiga transmitir toda a informação necessária, elucidando o utente de algumas precauções a tomar.

Como estagiária, iniciei a fase de atendimento ao público através da observação de atendimentos, o que me permitiu compreender os vários momentos desta fase, o modo de funcionamento do sistema informático *Sifarma 2000*[®] e a melhor maneira de abordar e moldar o nosso discurso consoante os diversos utentes. Seguidamente, fui incentivada a atender ao

público de forma autónoma, sendo que sempre que me surgia alguma dúvida era automaticamente esclarecida por parte dos colaboradores da farmácia, garantindo, sempre, um aconselhamento o mais adequado possível.

I. Dispensa de medicamentos e dispositivos médicos

Relativamente aos MSRM, o farmacêutico analisa atentamente a receita médica de forma a garantir que está a dispensar os medicamentos corretos, sem que hajam interações medicamentosas nem duplicações terapêuticas, bem como perguntar ao utente se deseja adquirir um medicamento de marca ou genérico, e neste caso se tem preferência pelo mais barato ou se pretende um igual ao que já tomava anteriormente. Nas receitas eletrónicas desmaterializadas (receitas sem papel), se for prescrita mais do que uma embalagem, é necessário informar o utente que pode levar a quantidade que pretender e que pode adquirir as restantes noutra farmácia, desde que dentro do prazo de validade da receita (SERVIÇO NACIONAL DE SAÚDE).

No caso dos MNSRM e outros produtos de saúde, este é um ato que envolve um aconselhamento cuidado, específico para cada caso e um sentido crítico apurado, apelando à aplicação de vários conhecimentos obtidos durante o meu percurso académico.

II. Dispensa de psicotrópicos e estupefacientes

Os medicamentos psicotrópicos e estupefacientes como são substâncias que podem causar habituação e dependência e pelo seu acrescido risco para fins ilícitos, são sujeitos a um controlo rígido em relação à sua entrada na farmácia e à sua dispensa. Durante a fase de atendimento, pude dispensar este tipo de medicamentos, sendo que é sempre necessário no momento da dispensa, para além da apresentação da receita médica, a identificação dos dados do doente, do adquirente e do médico prescriptor. Sendo que, como forma de controlo destes medicamentos, a farmácia deve enviar até ao dia 8 de cada mês, ao INFARMED, a listagem de entradas e saídas dos psicotrópicos e estupefacientes, assim como as fotocópias das receitas manuais e eletrónicas materializadas, e ainda, anualmente, enviar o balanço das entradas e saídas.

2.1.4 Realização de sábados

Durante o decorrer do estágio, tive a possibilidade de estagiar ao sábado, o que me permitiu contactar com a realidade do que é o horário de trabalho desta área. Para além de que, tive a possibilidade de comunicar com um público-alvo diferente que procurava muitas

das vezes um aconselhamento farmacológico ou não farmacológico para situações de crise e aflição, antes de se deslocar ao médico.

2.2 Análise Interna – PONTOS FRACOS

2.2.1 Grande diversidade de opções para um mesmo produto

A farmácia Matilde Soares apresenta uma grande variedade de escolha, com diversas marcas, para um mesmo produto. Apesar de que, por um lado se tratar de um ponto positivo, tendo em conta que, o utente tem imensa escolha podendo optar por um produto com o preço que melhor se adequa, para um estagiário com pouca experiência e que iniciou há pouco tempo o atendimento ao público torna-se bastante difícil conseguir conhecer todos os produtos e suas características, o que impede, assim, um aconselhamento rápido, focado e direcionado ao utente.

2.2.2 Preparação de manipulados

Um dos setores pelo qual o farmacêutico também é responsável é a preparação de manipulados, estes consistem em fórmulas magistrais, se forem preparadas de acordo com uma receita médica específica para um determinado doente, ou são preparados officinais, se forem preparados com base em indicações compendiais, destinando-se, neste caso, a um conjunto de doentes assistidos (DIÁRIO DA REPÚBLICA ELETRÓNICO). Normalmente, os manipulados são prescritos pelos médicos quando é necessário associar princípios ativos que não se encontram em associação no mercado ou sobretudo, em caso de uso geriátrico ou pediátrico.

No decorrer do meu estágio, na farmácia Matilde Soares, apenas preparei 2 manipulados, uma vez que as prescrições de manipulados para além de serem pouco frequentes, quando surgiam eram encomendados à Farmácia Barreiros, no Porto. Considero, assim, o facto de não ter participado na preparação de mais medicamentos manipulados um ponto fraco do meu estágio, dado que me impossibilitou de colocar em prática aptidões adquiridas durante a minha formação académica.

2.3 Análise Externa – OPORTUNIDADES

2.3.1 Formações

Hoje em dia, o mercado farmacêutico está em constante desenvolvimento e evolução, verificando-se cada vez mais a entrada de produtos inovadores e distintos dos atuais, ou até

mesmo a retirada de alguns. Por conseguinte, é necessário que os farmacêuticos estejam sempre em atualização em termos de conhecimentos teóricos e práticos acerca dos novos produtos para que, possam prestar, sempre e da melhor forma, o atendimento mais atualizado aos seus utentes.

Para tal, tive, por parte dos delegados de informação médica de diversos laboratórios, a oportunidade de assistir a diversas formações de cariz técnico-científico, nas instalações da farmácia. Desta forma, foi possível enriquecer e melhorar o meu atendimento com informação científica atualizada e correta.

2.3.2 Serviços farmacêuticos

A farmácia comunitária, cada vez mais, não é apenas um local de dispensa de medicamentos, mas sim um local onde se promove a saúde pública e o bem-estar dos seus utentes. Deste modo, a farmácia Matilde Soares dispõe de uma variedade de serviços farmacêuticos, como a administração de medicamentos injetáveis e de vacinas não incluídas no plano nacional de vacinação, a determinação de parâmetros bioquímicos e fisiológicos, a execução de testes de gravidez, a medição do peso corporal e até consultas de nutrição e podologia realizadas por uma profissional externo à farmácia.

Ao longo do estágio tive a oportunidade de realizar alguns destes serviços, por exemplo a determinação de parâmetros bioquímicos e fisiológicos, tais como o colesterol total, a glicémia capilar, a pressão arterial, o peso corporal, a altura e o índice de massa corporal (IMC). Desta forma, a prestação destes serviços foi, sem dúvida, uma oportunidade de aproximação para com o utente, bem como para o informar e o esclarecer relativamente a medidas não farmacológicas importantes para uma vida saudável e ativa.

2.4 Análise Externa – AMEAÇAS

2.4.1 Medicamentos esgotados

Durante todo o meu estágio foram recorrentes as vezes em que apareciam medicamentos esgotados na farmácia. Quando os medicamentos esgotados são MNSRM o farmacêutico pode dar outras alternativas de marcas com o mesmo PA e dose ou com outro PA equivalente. Se suceder num MSRSM de marca sendo que há um genérico no mercado, este poderá ser substituído pelo genérico. Caso seja um genérico que esteja esgotado, ou é substituído pelo medicamento de marca ou por outro genérico. No entanto, caso ainda não tenham sido introduzidos no mercado genéricos do medicamento esgotado, então somente o médico poderá fazer a alteração da terapêutica.

Neste âmbito, os medicamentos esgotados constituíram uma ameaça, uma vez que foi um evento que ocorreu frequentemente e nas situações em que não podíamos oferecer alternativa, os utentes deslocavam-se a outras farmácias ou então tinham de se deslocar junto do gabinete médico.

2.4.2 *Receitas manuais*

A prescrição médica tem vindo a evoluir no sentido da desmaterialização da receita, com o objetivo de reduzir o erro associado à interpretação da prescrição e, consequentemente, o erro no ato da dispensa dos medicamentos.

Ao longo dos meus 4 meses de estágio deparei-me com várias receitas manuais e constatei alguma dificuldade na interpretação da caligrafia médica. Deste modo, considero que este tipo de receita seja uma ameaça, pois aumenta a probabilidade de ocorrência de erros ao nível da dispensa dos medicamentos, caso não se consiga identificar o medicamento correto, a sua dosagem ou até mesmo a dimensão da embalagem. E, sendo assim, para além do efeito direto na saúde do utente, pode provocar problemas ao nível das participações feitas pelo Sistema Nacional de Saúde, que são recusadas caso haja erros na dispensa. Outro transtorno associado a erros da dispensa nas receitas manuais, é a não identificação correta dos regimes de participação e planos complementares o que pode fazer com que o utente seja prejudicado no montante a pagar.

3. Conclusão

O estágio curricular em Farmácia Comunitária é sem dúvida uma mais-valia no final dos 5 anos de formação académica, pois permite consolidar todos os conhecimentos teóricos, práticos e laboratoriais aprendidos ao longo da formação, como também aumentar, crescer e desenvolver novas aptidões e novos saberes que certamente serão muito relevantes num futuro próximo.

Do meu ponto de vista, a interação com os utentes também foi um aspeto enriquecedor, na medida em que desenvolvi e adquiri novas capacidades de comunicação, de relacionamento interpessoal e respeito para com o outro, tendo sempre em conta valores deontológicos e éticos.

Saliento, que a equipa de profissionais que me acompanhou foi realmente importante, no sentido em que me auxiliou sempre que eu necessitava, esclareceu as minhas dúvidas, incentivou-me a trabalhar autonomamente e contribuiu para o desenvolvimento quer dos meus valores pessoais quer profissionais. Resta-me agradecer a toda a equipa por esta experiência de estágio que não esquecerei e lembrarei com saudade.

Concluo, afirmando que a minha experiência de estágio foi uma etapa obrigatória e vital no meu percurso enquanto futura profissional, pois apenas com a prática da atividade farmacêutica é possível adquirir certos conhecimentos.

Referências Bibliográficas

Decreto-Lei nº 15/93, de 22 de janeiro. Diário da República: Série I-A, nº 18. [Acedido a 20 de agosto de 2019]. Disponível na Internet: <https://dre.tretas.org/dre/47946/decreto-lei15-93-de-22-de-janeiro>

ORDEM DOS FARMACÊUTICOS (a) - **código deontológico da ordem dos farmacêuticos.** [Acedido a 20 de agosto de 2019]. Disponível na Internet: <https://www.ceic.pt/documents/20727/38736/Código+Deontológico+da+Ordem+dos+Farmacêuticos/0e2861ff-ab1f-4368-b6b8-ed097ba4eda3>

ORDEM DOS FARMACÊUTICOS (b) - **Boas Práticas Farmacêuticas para a farmácia comunitária.** [Acedido a 20 de agosto de 2019]. Disponível na Internet: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/boas_praticas_farmaceuticas_para_a_farmacia_comunitaria_2009_20853220715ab14785a01e8.pdf

SERVIÇO NACIONAL DE SAÚDE - **Receita Sem Papel – 2016.** [Acedido a 20 de agosto de 2019]. Disponível na Internet: <https://www.spms.min-saude.pt/2015/10/receita-sem-papel/>

Anexos

Caso Clínico I – Exemplo I: Ansiedade e insónias

Na farmácia Matilde Soares, ainda é bastante recorrente os utentes quererem adquirir MSRM sem receita médica, mais especificamente benzodiazepinas. Numa destas situações, uma utente, dirigiu-se à farmácia, com cerca de 50 anos, e mencionou que andava sempre muito ansiosa e que isso lhe causava dificuldades em dormir, por causa de uns problemas familiares. E como uma amiga dela tomava um Xanax[®], prescrito pelo médico, e como este medicamento a tinha ajudado bastante, também pretendia um igual. Neste sentido, comecei por explicar à utente que não podia ceder uma benzodiazepina sem uma receita médica válida, já que se trata de um MSRM e que a sua prescrição requer um diagnóstico médico e a seleção do princípio ativo e da dose mais adequada para cada pessoa, advertindo-a, ainda, para a problemática do desenvolvimento de dependência física e psíquica destes medicamentos. Assim, aconselhei à utente um MNSRM classificado como Medicamento Tradicional à Base de Plantas, o VALDISPERT[®], que contém extrato seco de raiz de *Valeriana officinalis* para o alívio de tensão nervosa ligeira e perturbações de sono. Recomendei, ainda, que caso não surgisse efeito, que se dirigisse ao médico e explicasse a sua situação.

Caso Clínico II – Exemplo II: Diarreia em criança

A mãe de uma criança de 6 anos deslocou-se à farmácia porque o filho se encontrava com diarreia desde a manhã, as dejeções eram muito frequentes e acompanhadas de vómitos. Comecei por questionar a utente se o filho tinha ou não febre, dores à volta do umbigo e se o ocorrido estava relacionado com algum alimento ingerido. De seguida, sugeri medidas não farmacológicas como evitar a administração de leite e produtos lácteos até 24 horas. E relativamente a medidas farmacológicas, aconselhei a reposição de eletrólitos, nomeadamente recorrendo ao Oralsuero[®], sugerindo a sua administração lenta, começando com 1 a 2 colheres pequenas de 10 em 10 minutos. Recomendei, ainda, que se houvesse fezes com sangue, aumento da frequência da diarreia e vómitos, ou sinal de apatia por parte da criança, era necessário que se dirigissem ao médico.

PARTE II

Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar

Serviços Farmacêuticos do CHBV, E.P.E.

Orientado pela Dra. Ana Rocha e Dra. Isabel Rosete

Abreviaturas

AVC	acidente vascular cerebral
CAUL	Certificado de Autorização de Utilização de Lote
CHBV	centro hospitalar do baixo Vouga
DCI	denominação comum internacional
DU	dose unitária
Ghaf	Gestão Hospitalar de Armazém e Farmácia
INFARMED	Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.
SF	serviços farmacêuticos
TDT	técnicos de diagnóstico e terapêutica
VIH	vírus da imunodeficiência humana

I. Introdução

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, é um curso de cinco anos, em que no 2º semestre do último ano é concedida a oportunidade de realizar num período de 2 meses um estágio curricular, facultativo, nos Serviços Farmacêuticos de uma unidade hospitalar, o que proporciona a aplicação dos conhecimentos adquiridos ao longo de todo o percurso académico, bem como a oportunidade de enriquecer a nossa formação enquanto estudante. Para além de permitir experienciar o quotidiano de um profissional da área farmacêutica, aprender e desenvolver novas aptidões, e conhecer a realidade da futura profissão.

O farmacêutico é um agente de saúde responsável por desenvolver atividades de manutenção da saúde pública na promoção da saúde, informação e uso racional de medicamento e prevenção da doença. (AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE, I.P.)

Os Serviços Farmacêuticos Hospitalares, como ramo profissional das Ciências Farmacêuticas, constituem uma estrutura importante dos cuidados de saúde dispensados em meio hospitalar. Estes são departamentos independentes a nível técnico e científico e apesar da sua direção ser assegurada por um farmacêutico hospitalar estão sempre sujeitos à orientação geral dos Órgãos de Administração do Hospital. O Serviço Farmacêutico Hospitalar é responsável pela própria gestão, de maneira a garantir disponibilidade, qualidade, eficácia e segurança dos medicamentos, dispositivos médicos e produtos farmacêuticos para todo o hospital, faz parte das equipas dos cuidados de saúde e promove ações de investigação científica e de ensino. (MANUAL DA FARMÁCIA HOSPITALAR)

Por conseguinte, o farmacêutico hospitalar é um profissional de saúde altamente qualificado que faz parte de uma equipa de saúde multidisciplinar de um hospital, sendo que tem como responsabilidade a aquisição e a gestão dos medicamentos, validação das prescrições médicas, manipulação e dispensa da medicação e distribuição pelos diversos serviços, estando também envolvido na avaliação da inovação terapêutica e monitorização de ensaios clínicos. (ORDEM DOS FARMACÊUTICOS)

Neste âmbito, realizei o meu estágio curricular em farmácia hospitalar nos Serviços Farmacêuticos (SF) do Centro Hospitalar do Baixo Vouga, E.P.E. (CHBV, E.P.E.), em Aveiro, durante o período de 2 de maio a 28 de junho de 2019, sob orientação da Dra. Ana Rocha e da Dra. Isabel Rosete.

O CHBV, E.P.E. é um estabelecimento hospitalar pertencente ao Serviço Nacional de Saúde que integra os Hospitais de Aveiro, Estarreja e Águeda desde 2012. O CHBV possui como missão a prestação de cuidados de saúde diferenciados, em tempo útil e com elevada

efetividade, qualidade, eficiência e custos socialmente comportáveis, articulando-se com outros serviços de saúde. (CENTRO HOSPITALAR DO BAIXO VOUGA) Os SF do CHBV localizam-se no hospital Infante D. Pedro – Aveiro, este encontra-se dividido por 8 blocos, mais o local de urgências. Integrando, assim, os serviços de cardiologia, cirurgia, especialidades cirúrgicas (estomatologia, oftalmologia, otorrinolaringologia, urologia), especialidades médicas (neurologia e unidade acidente vascular cerebral (AVC)), infeciologia, pneumologia, medicina 1, 2 e 3, nefrologia, ortopedia, psiquiatria, obstetrícia e ginecologia, pediatria 1 e 2, unidade de cuidados intensivos neonatal, medicina intensiva, além de consultas externas, hospital de dia, hospitalização domiciliária, ensaios clínicos. Este serviço é constituído por 10 farmacêuticas, 8 técnicos de diagnóstico e terapêutica (TDT), 5 assistentes operacionais, 2 administrativas e está sob a direção da Dra. Isabel Rosete. O SF do CHBV assume como visão prestar cuidados de saúde no âmbito dos produtos farmacêuticos, assegurando a melhoria contínua dos cuidados prestados aos doentes.

2. Análise SWOT

Como solicitado, no presente relatório de estágio, irei avaliar a minha prestação no estágio curricular em farmácia hospitalar, incluir as observações que, no meu entender, valorizaram a minha aprendizagem, bem como analisar as atividades realizadas e as competências e conhecimentos adquiridos no decorrer destes dois meses. Desta forma, será feita uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*) fundamentada, que contempla uma vertente de análise interna: pontos fortes e pontos fracos, e uma outra vertente de análise externa: oportunidades e ameaças. Neste âmbito, e através desta ferramenta, apresentarei o meu ponto de vista relativamente aos aspetos positivos e negativos bem como às oportunidades e fraquezas vivenciadas por mim ao longo deste estágio e qual o impacto no meu futuro.

De seguida, encontra-se representado na Tabela I um esquema da análise SWOT realizada.

Tabela I - Esquema da análise SWOT

ANÁLISE INTERNA	
PONTOS FORTES	PONTOS FRACOS
<i>Ensaio clínico</i>	<i>Estágio maioritariamente observacional</i>
<i>Equipa técnica</i>	
<i>Gestão de encomendas e stocks</i>	
<i>Noções de funcionamento das aplicações informáticas</i>	
<i>Novos conhecimentos acerca de fármacos de uso exclusivo hospitalar</i>	<i>Preparação de manipulados</i>
<i>Reembalagem</i>	
<i>Sistema de distribuição de medicamentos</i>	
ANÁLISE EXTERNA	
OPORTUNIDADES	AMEAÇAS
<i>Passagem pelo Unidade de Águeda e Estarreja</i>	<i>Duração de estágio</i>
<i>Visita aos serviços clínicos</i>	<i>Preparação de citotóxicos e cistostáticos</i>

2.1 Análise Interna – PONTOS FORTES

2.1.1 Ensaio clínico

Estão a decorrer diversos ensaios clínicos no CHBV, sendo que é sempre necessária aprovação por uma comissão de ética nacional, local e interna do hospital. Apenas participam nos ensaios clínicos os doentes que respeitem todos os critérios de inclusão e quando sugeridos pelo médico. São os farmacêuticos os responsáveis por rececionar, armazenar e ceder os medicamentos dos ensaios, de forma a garantir a transparência, rastreabilidade e responsabilidade. No período em que acompanhei o farmacêutico responsável pelos ensaios clínicos auxiliiei no preenchimento de toda a documentação envolvida na receção da medicação, bem como procedi também ao seu armazenamento nos locais apropriados (temperatura e humidade controladas) e ajudei na organização da sala dos ensaios de modo a rentabilizar o espaço.

2.1.2 Equipa técnica

Toda a equipa técnica dos SF do CHBV é relativamente jovem e dinâmica, simpática, acessível e flexível, mostrando sempre disponibilidade para dispensar material de apoio, bem como para me auxiliar em qualquer dúvida ou problema que tivesse. Deste modo, conseguiram

transmitir-me valores essenciais à prática farmacêutica e ao mesmo tempo, quais as dificuldades, preocupações e focos relativamente à realidade da farmácia hospitalar.

2.1.3 Gestão de encomendas e stocks

A gestão e controlo dos medicamentos, produtos farmacêuticos e dispositivos médicos nos SF do CHBV é feita por um farmacêutico hospitalar e inicia-se com a aquisição dos produtos. Neste caso, é realizada pela diretora técnica e por uma farmacêutica hospitalar, tendo o apoio das administrativas. Considerei esta etapa um ponto forte, pois tive a oportunidade de acompanhar a diretora técnica na realização destas tarefas e retirar todas as dúvidas que me surgissem bem como perceber as diferenças que existem entre o meio hospitalar e meio comunitário.

A etapa de aquisição inicia-se quando o sistema informático Gestão Hospitalar de Armazém e Farmácia (GHAF[®]) gera automaticamente uma lista de produtos a requisitar com base num alerta de encomenda que é gerado quando o *stock* se encontra inferior ao ponto de encomenda (*stock* mínimo) previamente definido. Para além destes produtos, são também acrescentados manualmente à encomenda os produtos de agenda. Estes são produtos que apenas alguns doentes fazem em determinados períodos e que, por razões económicas são pedidos quando necessários. Sendo assim, é feito o pedido informático de encomenda ao Serviço de Aprovisionamento, que de seguida, emite uma nota de encomenda ao fornecedor do produto. É muito importante que haja uma boa gestão e um bom controlo de *stocks* para não causar nenhuma rotura e consequentemente falhas na distribuição da medicação. No entanto, caso se verifique alguma rutura de *stock*, o CHBV pode proceder a um pedido de empréstimo a outras instituições hospitalares, sendo que tem que ser tudo bem documentado de maneira a que posteriormente se possa proceder ao pagamento não monetário, mas através da devolução do produto quantitativa e qualitativamente. Após a aquisição, é feita a receção e a conferência das encomendas pelos assistentes operacionais, sendo que, de seguida, o diretor técnico verifica e valida as encomendas para que possa ser dado entrada no sistema informático. O registo do produto é feito por lote e prazo de validade, e posteriormente, armazenado nas devidas condições (humidade e temperatura). Todos os produtos de saúde encontram-se armazenados consoante a sua tipologia e organizados por ordem alfabética de princípio ativo, honrando o princípio *first-expire*, *first-out*, em que se retira primeiro o produto com menor validade. Relativamente aos produtos de saúde *look-alike sound-alike* (nome ortográfico, fonético ou aspeto semelhantes) são colocadas etiquetas com letras a maiúsculo, de modo a destacar as diferenças e minimizando o erro.

2.1.4 Noções do funcionamento das aplicações informáticas

Dos SF do CHBV fazem parte 2 aplicações informáticas que permitem minimizar o erro humano, simplificar as tarefas diárias e rentabilizar os processos a nível temporal e económico, como é o caso da GHAF[®] e o SClínico[®]. A GHAF[®] é uma ferramenta informática completamente adaptada aos processos logísticos de uma Unidade Hospitalar, facilitando assim, a gestão de stocks e encomendas e o armazenamento, por outro lado é usada em regime de ambulatório no atendimento ao utente, bem como na validação da prescrição por parte do farmacêutico e distribuição aos diversos serviços clínicos. Enquanto que, no Sclínico[®] se coloca a informação relativa ao histórico clínico do doente o que se torna útil quer para o médico quer para o farmacêutico. Tomar conhecimento destas 2 aplicações informáticas foi um ponto forte, na medida em que percebi o impacto do uso de sistemas de informação informatizados em ambiente hospitalar, assim como o papel que o seu bom funcionamento tem no dia-a-dia dum farmacêutico hospitalar.

2.1.5 Novos conhecimentos acerca de fármacos de exclusivo uso hospitalar

Durante este estágio adquiri e aprofundei novos conhecimentos acerca de fármacos usados em exclusivo na farmácia hospitalar, uma vez que na distribuição em regime de ambulatório pude conhecer os esquemas terapêuticos que se associam a cada patologia e que não são cedidos em farmácia comunitária. Para além de que, através da preparação da medicação do hospital de dia pude, consoante o protocolo de cada doente, conhecer alguns dos fármacos antineoplásicos e seus coadjuvantes.

2.1.6 Reembalagem

Na dispensa individual diária em DU é necessário que todos os medicamentos estejam identificados com DCI, dose, lote, prazo de validade, no entanto nem todos os laboratórios que fornecem o CHBV produzem medicamentos nessas condições. Sendo assim, a tarefa de reembalagem desses medicamentos é extremamente relevante e durante o meu estágio foi-me dada a oportunidade de ajudar nesta tarefa. Para além de que, a reembalagem permite ajustar a terapêutica ao doente, caso seja necessário metades ou quartos de comprimidos. Este processo é realizado pelos assistentes operacionais, conferido por um TDT e validado por um farmacêutico.

2.1.7 Sistema de distribuição dos medicamentos

Um sistema de distribuição de medicamentos devidamente organizado num hospital é extremamente relevante de modo a que o medicamento chegue à pessoa e no tempo certo, nas quantidades, doses e formas farmacêuticas corretas e nas melhores condições possíveis, com a finalidade de diminuir os erros associados à medicação, bem como racionalizar o uso da terapêutica. Nos SF do CHBV são vários os diferentes tipos de distribuição de medicamentos com que pode contactar.

A distribuição de medicamentos pode ser feita por reposição de *stock* por níveis, em que neste é elaborado uma lista combinada pelo diretor de serviço, o enfermeiro-chefe e o farmacêutico responsável por aquele serviço clínico, discriminando o *stock* que deve estar presente na enfermaria do serviço clínico, com os respetivos valores mínimos e máximos. O pedido de reposição destes *stocks* é elaborado pelo enfermeiro de serviço uma vez por semana, validado pelo farmacêutico e preparado pelo técnico e posteriormente distribuído. Por outro lado, a distribuição de medicamentos pode ser realizada também pela gestão de *stock* com armazéns avançados, neste caso, é elaborado uma lista, tal como na distribuição por reposição de *stocks* nivelados, com o *stock* que deve estar presente naquele serviço clínico. No entanto, nos armazéns avançados a informação dos *stocks* está informatizada e cada produto está assinalado com um código de barras, e sempre que o enfermeiro necessita de retirar um produto tem de ler o respetivo código de barras. Desta forma, é responsabilidade dos serviços farmacêuticos repor o *stock* mínimo, não sendo necessária a requisição por parte do enfermeiro.

Em relação ao pyxis, este é um sistema automático de armazenamento e distribuição que consiste num conjunto de armários que é controlado e gerido por um *software* que comunica com o sistema informático do hospital e assim é possível o controlo total por parte dos serviços farmacêuticos dos movimentos e consumos do serviço clínico em questão. Este sistema apresenta inúmeras vantagens, como a redução do consumo dos medicamentos, do *stock* nas enfermarias, do tempo dispensado pelos enfermeiros com a medicação, diminuição dos erros na distribuição e administração, permite uma gestão em tempo real do *stock* dos medicamentos, e ainda se verifica um registo completo de todos os consumos tendo em conta que apenas um enfermeiro autorizado pode ter acesso e só consegue retirar a quantidade que foi prescrita para aquele doente.

O CHBV, na maioria dos serviços, recorre à distribuição individual diária em dose unitária (DU), uma vez que este tipo de distribuição permite uma maior segurança no circuito de medicamento, melhora a racionalização da terapêutica e os seus custos e diminui os riscos

de interações, trazendo vantagens ao doente, aos profissionais de saúde e ao hospital. Após a prescrição médica, esta é validada pelo farmacêutico com base nas interações entre os medicamentos, efeitos adversos, motivo pelo qual o doente foi internado, justificação clínica no caso dos antibióticos e ainda de acordo com a disponibilidade do medicamento no *stock* da farmácia. Seguidamente, o farmacêutico processa a informação para o kardex[®] ou em modo de mapa terapêutico para ser impresso pelos TDT. São os TDT que preparam a medicação diária em dose individual unitária para um período de 24 horas, ou em caso de fim de semana e feriados, para 72 horas ou 48 horas, respetivamente. A medicação é preparada em gavetas, uma gaveta por cada doente, e em malas, cada mala corresponde a um serviço clínico. Quando a mala está completa é enviada para cada serviço pelos assistentes operacionais. Caso algum medicamento não seja administrado, é devolvido na mala e depois são processadas as revertências no sistema informático pelos TDT. O kardex[®] é um sistema rotativo vertical composto por gavetas, sendo que cada gaveta contém um determinado produto. Este está conectado a um monitor que permite ver em qual linha e em que gaveta se encontra o medicamento, qual a quantidade a colocar em cada doente e indica caso seja necessário colocar aquele medicamento em mais do que um doente e quais são as camas correspondentes. Sendo assim, o kardex[®] é um aparelho que auxilia os TDT na preparação da medicação ao reduzir os erros, melhorando a eficiência e o tempo de trabalho, e contribui ainda para uma melhor gestão do *stock*.

No CHBV está estabelecido para certos medicamentos, circuitos especiais de distribuição que envolve o preenchimento de um requisito próprio. No caso dos citotóxicos, estes são prescritos pelos oncologistas, de seguida validados pelos farmacêuticos e enviados para a câmara de preparação de citotóxicos onde vão ser preparados pelos enfermeiros segundo os requisitos de esterilidade e segurança. Relativamente aos hemoderivados, estes são medicamentos derivados do plasma e sangue humano, e por isso necessitam de maior controlo que possibilite a rastreabilidade dos lotes. Para a dispensa deste medicamento é necessário o preenchimento obrigatório de uma requisição especial preenchida pelo médico em nome do doente e pelo farmacêutico que coloca o medicamento a dispensar, a quantidade, lote, prazo de validade, número de certificado de autorização de utilização de lote (CAUL), a data e assina. Esta requisição possui 2 vias, uma irá de novo para o serviço e a outra permanece na farmácia para que seja arquivada, caso haja devolução deve ser anotado na via da farmácia a quantidade de embalagens devolvidas. Em relação aos estupefacientes e psicotrópicos, tendo em conta o seu cariz de dependência, estes encontram-se armazenados numa sala que está sempre fechada e que para sua dispensa é necessário preencher pelo médico o anexo X, que contém o nome do medicamento, a dose e a quantidade administrada, o nome do doente e a

data de administração. A requisição do pedido deve ser entregue ao farmacêutico responsável pelo serviço clínico para que seja possível fazer a dispensa, os originais permanecem na farmácia e os duplicados retornam ao serviço. De modo a controlar o stock, é obrigatório fazer o registo de todas as cedências e, semanalmente verificar o stock físico da farmácia e comparar com o stock apresentado na GHAF[®] para que, por fim, seja enviado para o INFARMED, uma vez por mês, a informação correta relativa aos estupefacientes e psicotrópicos cedidos.

Os SF do CHBV também realizam a dispensa de medicamentos em regime de ambulatório. A distribuição em ambulatório é vantajosa na medida em que reduz os internamentos e as infeções adquiridas em meio hospitalar, melhora a adesão à terapêutica e não apresenta qualquer tipo de custo monetário para o doente. Este regime de dispensa é feito apenas para determinadas patologias, patologias essas que são mais raras e em que a sua medicação é extremamente elevada em termos monetários e por isso, o estado acarreta com esses encargos económicos. No CHBV são apoiados os doentes, por exemplo, com vírus da imunodeficiência humana (VIH), hepatite B e C, Artrite Reumatóide, Artrite Psoriática, Psoríase em placas, Fibrose Quística, Esclerose Múltipla, entre outras. O farmacêutico tem autorização para dispensar medicação apenas para um mês, exceto em doentes imunodeficientes que podem levar medicação para 3 meses ou em situações em que o conselho de administração autorizou o levantamento para 3 ou mais meses, por exemplo, em caso de doentes emigrantes, o que implica longas estadias fora de Portugal. Pode ainda ser dispensada medicação para mais de um mês sem autorização caso esta não ultrapasse o valor de 100 euros. O CHBV tem um gabinete para a distribuição em ambulatório com um farmacêutico, este é responsável por promover a adesão à terapêutica, manter o sigilo profissional, registar os consumos em termos de quantidade e lote para gestão e controlo de stock, corrigir as receitas do dia anterior para verificar que não houve erros nas cedências, registar alterações nas prescrições e registar todos os novos doentes a fazer terapêutica com medicamentos antirretrovirais ou biológicos.

A observação destes diferentes tipos de distribuição constituiu um ponto forte ao longo do meu estágio, uma vez que sempre que contactava com um diferente modo de distribuição era explicado o seu funcionamento, bem como, sempre que possível, requisitavam o meu auxílio na realização duma qualquer tarefa relacionada com esse forma de distribuição. Nas diferentes visitas aos serviços clínicos, contactei com os locais dos *stocks* por níveis e dos *stocks* por armazéns avançados, o que me permitiu perceber a diferença entre os dois. Para além de que, também pediram o meu auxílio para fazer etiquetas, de forma a organizar e identificar os produtos nestes *stocks*. Durante a visita aos serviços clínicos, contactei com o

sistema automático de distribuição *pyxis* onde aprendi o seu manuseamento e ajudei na sua reposição. Em relação à distribuição diária individual por dose unitária, na primeira semana pude observar a sala da unidose e pude ajudar os TDT quer na preparação da medicação para os diferentes serviços usando o kardex®, quer na reposição deste aparelho. No início do meu estágio apenas observava o farmacêutico a validar a prescrição médica, e estudava os mapas terapêuticos o que me ajudava a associar os fármacos a determinados serviços, patologias e classes farmacoterapêuticas, enquanto que nas minhas últimas semanas de estágio já validava no sistema informático as prescrições, mas sempre com o auxílio do farmacêutico. No caso dos medicamentos dispensados por circuitos especiais, tive a possibilidade de dispensar várias vezes esses medicamentos, sendo que tinha de ter sempre em atenção o preenchimento das requisições e os arquivos destas. Por fim, foi no ambulatório o setor onde me senti mais à vontade e o qual gostei mais, pois é o único serviço pelo qual contactamos diretamente com o utente e assim, conseguimos ouvir as suas histórias pessoais e dificuldades associadas às patologias, permitindo-nos fazer um acompanhamento mais personalizado e próximo. Deste modo, assisti e pude realizar com uma certa autonomia a dispensa deste tipo de medicação, ajudei no controlo de adesão à terapêutica e procedi ao preenchimento de mapas de novos doentes e de levantamentos.

2.2 Análise Interna – PONTOS FRACOS

2.2.1 Estágio maioritariamente observacional

No período do meu estágio curricular nos SF do CHBV acompanhei e observei todos os farmacêuticos, os seus serviços e suas tarefas diárias. E embora possa ter enriquecido os meus conhecimentos e aprendido como se processa todo o circuito do medicamento na área hospitalar, dado o cariz de responsabilidade do farmacêutico hospitalar, as minhas tarefas passaram essencialmente pela observação e não pela execução.

2.2.2 Preparação de manipulados

A farmacotecnia corresponde a um dos sectores dos SF responsável pela preparação de formulações de medicamentos fundamentais ao hospital. Desde 2009, que o CHBV possui um laboratório equipado com o devido material para a preparação de manipulados, tais como, adaptação de especialidades farmacêuticas comercializadas, formulações desinfetantes, soluções e suspensões de uso pediátrico e geriátrico. Neste hospital as exigências de medicamentos manipulados são pouco frequentes e por isso não se realizam muitas preparações e quando se efetuam, estas são preparadas pelos TDT.

Desta forma, durante o meu tempo de estágio apenas pude realizar a preparação de um manipulado de nistatina para doentes oncológicos quando estava a acompanhar a distribuição de medicamentos em regime de ambulatório, e por isso considero um ponto fraco o facto de não ter tido a oportunidade de aprender e praticar mais neste setor.

2.3 Análise Externa – OPORTUNIDADES

2.3.1 Passagem pelo Unidade de Águeda e Estarreja

O CHBV engloba a unidade hospitalar de Aveiro, Águeda e Estarreja desde 2012, o que faz com que para além de haver distribuição da medicação pelo hospital Infante D. Pedro (Aveiro) também há essa distribuição, através dos motoristas da farmácia, por Águeda e Estarreja. A distribuição da medicação nestas 2 unidades é feita por reposição por níveis de stock, como também, através de distribuição individual diária em DU e distribuição em regime de ambulatório. Terça-feira e quarta-feira são os dias em que a Dra. Cristina e a Dra. Ana se deslocam a Águeda e Estarreja, respetivamente, de forma a procederem ao ambulatório nestes locais. No decorrer do meu estágio tive a oportunidade de ir uma vez a Águeda e duas vezes a Estarreja, sempre acompanhada pelas farmacêuticas responsáveis pelos serviços farmacêuticos destas unidades, o que me deu a possibilidade de conhecer estas 2 diferentes realidades, perceber quais e como funcionam os seus serviços clínicos, contactar com os seus profissionais de saúde, e o mais relevante foi poder ter entrado em contacto com o doente no âmbito do ambulatório de uma maneira mais fácil, intimista e próxima permitindo, assim, um acompanhamento mais direccionado. Considerei esta uma excelente oportunidade, pois percebi o impacto que teve e que ainda tem naqueles cidadãos o fecho dos serviços farmacêuticos nas suas localidades.

2.3.2 Visita aos serviços clínicos

Os farmacêuticos dos SF do CHBV levaram-me a visitar quase todos aos serviços clínicos pelos quais eram responsáveis o que me deu a oportunidade de conhecer a localização de cada serviço no hospital e melhorar a minha orientação; contactar com o modo de distribuição, com os profissionais de saúde e com os doentes de cada serviço, por exemplo, acompanhei o farmacêutico na reposição dos estupefacientes e psicotrópicos dos *pyxis* nos serviços de ginecologia e obstetrícia, urgências e bloco operatório, como também me foi concedida a oportunidade de acompanhar a farmacêutica responsável pelo serviço de pediatria na reunião de serviço à quinta-feira de manhã.

2.4 Análise Externa – AMEAÇAS

2.4.1 Duração de estágio

A farmácia hospitalar é uma área muito vasta e os farmacêuticos dos SF do CHBV são responsáveis por diversos serviços clínicos, fazem parte das comissões hospitalares, acabando por ter um trabalho bastante complexo e exaustivo. Neste âmbito, o facto do período de estágio ser apenas 2 meses dificulta a passagem por todos os setores da forma como gostaríamos. Considero que, se a duração do estágio fosse maior beneficiaria os alunos e as suas aprendizagens, dado que há setores que exigem um acompanhamento mais minucioso e mais tempo de permanência.

2.4.2 Preparação de citotóxicos e citostáticos

No CHBV a preparação de medicamentos citotóxicos e citostáticos é realizada por enfermeiros numa sala destinada para esse efeito com uma pressão negativa, equipada com uma câmara de fluxo laminar vertical, de modo a garantir a proteção do operador. No CHBV é elaborado um registo dos doentes para saber que medicação é necessária, em que dia e durante quantos ciclos vai ser administrada e, posteriormente, fornecida à farmacêutica responsável pelo hospital de dia de modo a que esta consiga realizar a gestão da compra destes fármacos. Assim sendo, a farmacêutica tem acesso aos protocolos de oncologia destinado a cada doente e valida as prescrições médicas. A validação consiste em identificar o doente, averiguar qual o carcinoma detetado e comparar com a terapêutica atribuída, assegurar o número do ciclo, verificando quando foi efetuada a última administração, as doses, a solução de diluição, o tempo de perfusão, a via de administração e por fim verificar se se encontra prescrita toda a pré-medicação necessária (como, por exemplo, os antieméticos). Caso, o farmacêutico detete alguma divergência no protocolo de tratamento poderá entrar em contacto com o oncologista, e assim perceber se se trata de um erro associado à prescrição. De seguida, todos os dias, a farmacêutica envia os medicamentos que serão necessários para aquele dia e seus coadjuvantes para a câmara de preparação de citotóxicos, de forma a estes serem preparados pelos enfermeiros para cada doente.

Tive a oportunidade de visitar o hospital de dia, a câmara de preparação de citotóxicos e perceber como funcionava o circuito daquele tipo de medicamento. No entanto, considero a não preparação dos citotóxicos pelos farmacêuticos uma ameaça ao papel do farmacêutico hospitalar, pois se outros profissionais de saúde desempenham uma função que é da total responsabilidade do farmacêutico hospitalar, torna-se questionável a razão de existir um farmacêutico no hospital.

3. Conclusão

Após terminado o período de estágio nesta estrutura complexa e multidisciplinar que é o SF do CHBV, posso afirmar que os objetivos propostos pelo meu plano de estágio foram atingidos com sucesso.

Ao longo destes 2 meses, foi-me concedida a oportunidade de contactar com a realidade da profissão farmacêutica e do circuito do medicamento em ambiente hospitalar, e assim desenvolver novas competências profissionais e éticas neste campo, como também diversos conhecimentos teóricos e práticos que me serão úteis num futuro próximo.

Na minha opinião, este estágio curricular foi muito gratificante, no sentido em que, me permitiu verificar a fulcral intervenção e responsabilidade do farmacêutico hospitalar como agente de saúde pública especialista do medicamento e perceber que o seu foco principal é o doente, a sua saúde e o seu bem-estar.

Resta-me agradecer a toda a equipa de trabalho que me orientou, acompanhou e auxiliou nesta minha pequena jornada de desenvolvimento pessoal e profissional.

Referências Bibliográficas

AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE, I.P. – **Farmacêuticos**. [Acedido a 15 de agosto de 2019]. Disponível na Internet: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/licenciamentos/farmaceuticos>

CENTRO HOSPITALAR DO BAIXO VOUGA – **Missão e Visão**. Disponível na Internet: [Acedido a 15 de agosto de 2019]. Disponível na Internet: <http://www.chbv.min-saude.pt/missao-e-visao/>

MANUEL DA FARMÁCIA HOSPITALAR – **Serviços Farmacêuticos hospitalares**. [Acedido a 15 de agosto de 2019]. Disponível na Internet: <http://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/manual.pdf/a8395577-fb6a-4a48-b295-6905ac60ec6c>

ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – **Farmácia Hospitalar**. [Acedido a 15 de agosto de 2019]. Disponível na Internet: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-hospitalar/>

PART III

Monograph

“Leptin as a new therapeutic approach in obesity, lipodystrophy and depression and its potential use via intranasal administration”

Guided by Professor Joana Bicker de Melo Alves Aparício

Abbreviations

AgRP	agouti-related protein
Akt	serine/threonine-specific protein kinase
AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid
AMPK	adenosine monophosphate-activated protein kinase
ARC	arcuate nucleus
BBB	blood–brain barrier
BCSFB	blood-cerebrospinal fluid barrier
BDNF	brain-derived neurotrophic factor
BMI	body mass index
C/EBP α	CCAAT-enhancer-binding protein alpha
CART	cocaine and amphetamine regulated transcript
CNS	central nervous system
CREB	cAMP-response element binding protein
CSF	cerebrospinal fluid
CVOs	circumventricular organs
EMA	European Medicines Agency
ER	endoplasmic reticulum
ERK	extracellular signal-regulated kinases
FDA	Food and Drug Administration
Fox O1	forkhead box protein O1
GRB2	growth factor receptor-binding protein 2

GSK	glycogen synthase kinase
IL	interleukin
IRS	insulin receptor substrates
JAK	janus kinase
LepR	leptin receptor
MAPK	mitogen-activated protein kinase
ME	median eminence
mTOR	mammalian target of rapamycin
NMDA	N-methyl-D-aspartate
NPY	neuropeptide Y
PI3K	phosphatidylinositol-3-kinase
POMC	proopiomelanocortin
PTP	protein tyrosine phosphatases
PTP1B	protein tyrosine phosphatase 1B
S6K1	protein S6 kinase beta-1
SH2	Src homology 2
SHP2	Src homology 2-containing tyrosine phosphatase
SOCS3	suppressor of cytokine signaling 3
STAT	signal transducer and activator of transcription
TNF	tumor necrosis factor
Tyr	tyrosine
α-MSH	α -melanocyte-stimulating hormone

Abstract

Nearly 25 years ago, an adipokine called leptin was discovered. Leptin, from the greek leptos (“thin”), is a 16-kDa protein with 167 amino acid residues, encoded by the Lep gene (the human homolog of murine *ob* gene) and produced mainly by adipose tissue. Adipose tissue is an important and dynamic endocrine organ that synthesizes and secretes several adipokines, including leptin. This polypeptide is one of the most important and abundant adipokines and participates in the regulation of several vital physiological functions, namely energy homeostasis, neuroendocrine function and metabolism. Additionally, it appears to influence other processes that include memory, neural plasticity, the autonomic nervous system and the regulation of immune function. Since the identification of leptin was a landmark discovery in metabolism and endocrinology, a deeper understanding of how leptin is related to different diseases may lead to new therapeutic approaches. In this monograph, the relationship between leptin and important pathologies will be addressed, namely obesity, lipodystrophy and depression. Given that the transport of leptin to the central nervous system is saturable, the potential of the intranasal administration route will be discussed. The intranasal administration of leptin enables a direct access to the brain by circumventing the blood brain barrier, thereby representing a promising future therapeutic tool.

Keywords: leptin, obesity, lipodystrophy, depression, intranasal administration.

Resumo

Há quase 25 anos foi descoberta uma adipocina chamada de leptina. A leptina, que provém do grego leptos (“magro”), é uma proteína de 16 kDa com 167 resíduos de aminoácidos, codificada pelo gene *Lep* (homólogo humano do gene de murganho *ob*) e produzida principalmente pelo tecido adiposo. O tecido adiposo é um importante órgão endócrino dinâmico que sintetiza e secreta várias adipocinas, incluindo a leptina. Este polipeptídeo é uma das mais abundantes e relevantes adipocinas, que participa na regulação de várias funções fisiológicas vitais, nomeadamente a homeostase de energia, função neuroendócrina e metabolismo. Além disso, parece ter influência noutros processos, incluindo a memória, a plasticidade neural, o sistema nervoso autónomo e uma função imunológica. Uma vez que a identificação da leptina foi uma descoberta tão marcante para o metabolismo e endocrinologia, uma compreensão mais profunda de como a leptina está relacionada com diversas doenças poderá conduzir a novas abordagens terapêuticas. Nesta monografia, será abordada a relação entre a leptina e algumas patologias importantes, como a obesidade, a lipodistrofia e a depressão. Dado que, o transporte desta hormona para o sistema nervoso central é saturável, esta monografia irá também discutir o potencial da via intranasal como forma de administração. A administração intranasal de leptina fornece um acesso direto deste polipeptídeo ao cérebro contornando a barreira hematoencefálica, o que poderá constituir uma futura ferramenta terapêutica promissora.

Palavras-chave: leptina, obesidade, lipodistrofia, depressão, administração intranasal.

I. Introduction

In 1994, Friedman et al. identified the hormone leptin after cloning the mouse obese (*ob*) gene and its human homolog (ZHANG *et al.*, 1994). This adipokine is produced essentially by white adipose tissue, although the *ob* gene has also been detected in brown adipose tissue, mammary gland, heart, brain, skeletal muscle, bone, lymphoid tissue, pituitary gland, ovary, placenta, stomach, intestine and joint tissue, indicating a possible local leptin production in these tissues/organs. In addition to mammals, it is expressed in fish and amphibians, for example (FRANCISCO *et al.*, 2018; LIU *et al.*, 2018). Despite being formed proportionally to the quantity and size of adipocytes present in adipose tissue (CARO *et al.*, 1996) its storage in these cells is considered insignificant, since it is practically all secreted into the systemic circulation (ANN *et al.*, 2010) where it circulates in two forms: free and bound to plasma proteins. In obese individuals, the free and bioactive fraction of leptin is enhanced (HOUSEKNECHT *et al.*, 1996). It exhibits central and peripheral actions (DIETRICH *et al.*, 2008), but the main site of its action is in central nervous system (CNS), particularly in the hypothalamus (DALAMAGA *et al.*, 2013).

Initially, leptin was synthesized as a polypeptide constituted by 167 amino acids (18 kDa molecular weight). Nevertheless, the mature circulating form only has 146 amino acids (16 kDa molecular weight), since the amino-terminal secretory signal sequence of 21 amino acids is removed in the endoplasmic reticulum (ER), during post-translational modifications. Interestingly, its amino acid sequence exhibits 84% homology between mice and humans, and it displays a tertiary structure analogous to cytokines, notably interleukin (IL) IL-6 and IL-7 (ZHANG *et al.*, 1994).

In order to trigger its physiological effects, leptin binds to receptor *ob* (LepR or Ob-R), which is encoded by *db* gene (Figure 1A) located on the short arm of chromosome 1 (cr 1p31). There are six LepR isoforms (LepRa-f) that despite having an extracellular domain in common, differ in the length of the intracellular domain (Figure 1B). Each isoform of LepR has a specific function and can be categorized into three groups: long, short or secreted isoform. LepRa, LepRc, LepRd, LepRf are the short isoforms, LepRe is the secreted isoform and LepRb is the long isoform, which all have intracellular motifs necessary for the activation of intracellular pathways (BANKS *et al.*, 2002). The secreted isoform LepRe is formed only by the extra-cellular domain, so it is the smallest and the soluble isoform of the receptor. It was reported that the short isoforms of LepR oversee the transport of leptin across the blood brain barrier (BBB) (BJØRBÆK *et al.*, 1998).

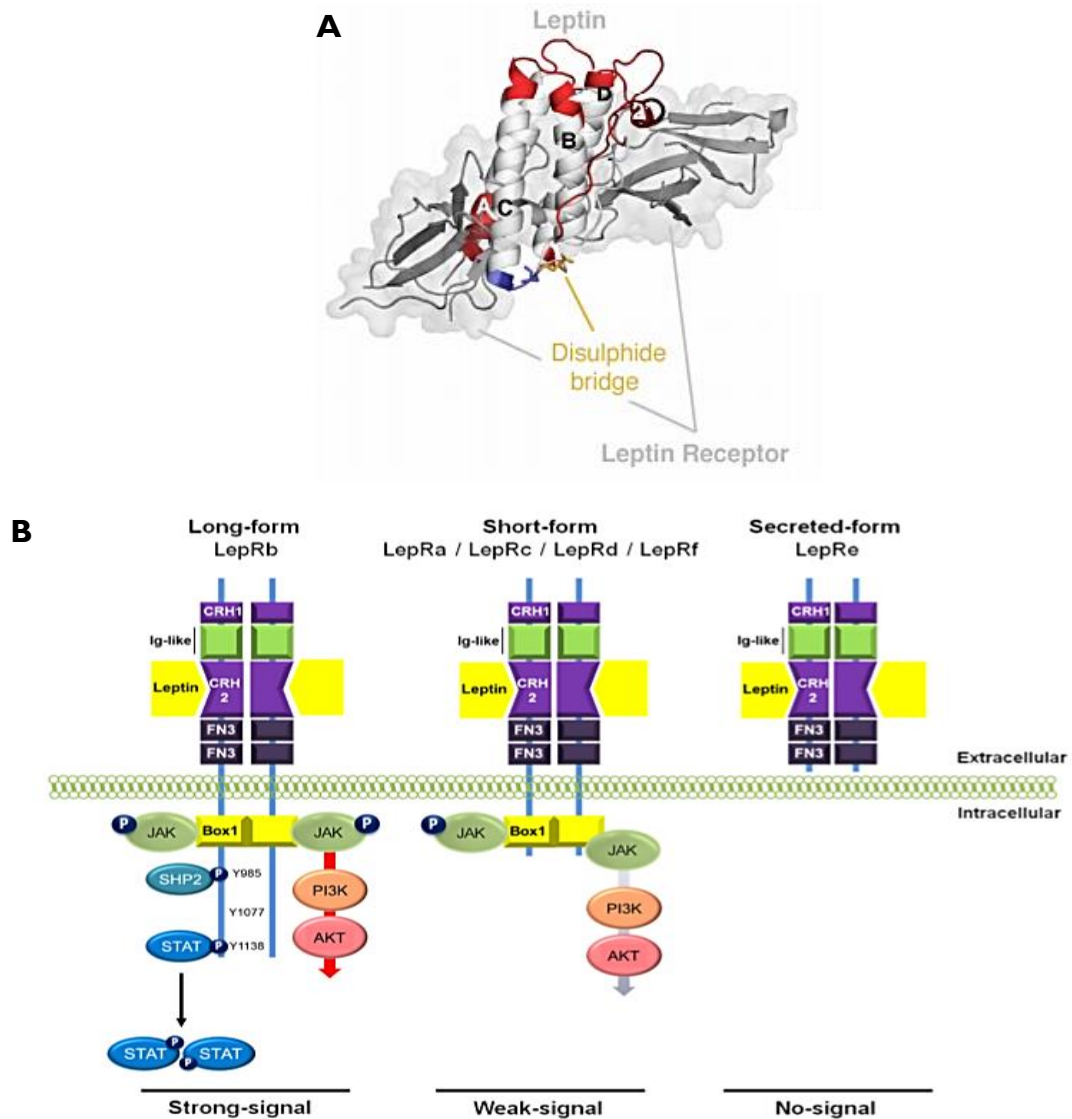


Figure 1 - Crystal structure of the human leptin-leptin receptor complex (A) and leptin receptor isoforms (B). LepRa-f have a common extracellular domain but differ in intracellular domains. AKT, ak strain transforming/protein kinase; JAK, janus kinase 2; LepR, leptin receptor; PI3K, phosphatidylinositol-3-kinase; STAT, signal transducer and activator of transcription; SHP-2, src-homology-2 containing phosphotyrosine phosphatase 2 (HAGLUND *et al.*, 2014) (KWON *et al.*, 2016).

However, in spite of binding to the long and short form receptors with the same affinity, leptin can only exert its biological action through the long form, LepRb. This receptor is constituted by 304 residues and highly expressed in the hypothalamus. It works similarly to cytokines and has several putative janus kinase (JAK) signal transducer and activator of transcription (STAT) binding sites. Consequently, the physiological functions of leptin are mediated via JAK and STAT signaling pathways (BJØRBÆK *et al.*, 1997).

Primarily, it was thought that the main role of leptin was to reduce food intake, body weight and appetite, but throughout the years it was proved that this adipokine can also regulate many other biological functions, such as glucose homeostasis, neuronal development, neuroendocrine function, energy balance, cognition and memory (ANN *et al.*, 2010;

ROSENBLUM *et al.*, 2016; STAHL & YANCOPOULOS, 1993). These topics will be explored in greater detail in subsequent sections.

Thus, the main objective of this monograph is to provide a better understanding of the pathophysiological role of leptin in several diseases and discuss its therapeutic usefulness. Additionally, the access of this hormone to the CNS is explored, together with the potential of the intranasal route for its future administration.

2. Leptin

2.1 Mechanism of action

As previously stated, leptin is mainly produced by adipose tissue to control glucose and lipid metabolism, energy homeostasis, immune function and other systems. Thereafter, it will be secreted into the bloodstream and transported to the brain or to peripheral tissues. Within the CNS, leptin binds to its specific receptor LepRb and activates various intracellular signaling pathways (Figure 2), including JAK2 and STAT3, but also SH2-containing protein tyrosine phosphatase 2 (SHP2)/mitogen-activated protein kinase (MAPK) and insulin receptor substrate (IRS)/ phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) (DALAMAGA *et al.*, 2013).

Once leptin binds to LepRb in the brain, it triggers the activation and promotion of autophosphorylation of JAK-2. Then, JAK-2 phosphorylates tyrosine (Tyr) residues of the intracellular domain of LepRb. Depending on which Tyr residue is phosphorylated, it will activate different types of intracellular signaling pathways and consequently diverse leptin effects (DOHERTY, 2011).

If Tyr 985 is phosphorylated, it will facilitate the interaction with SHP2 and the small growth factor receptor-binding protein (GRB2), leading to the activation of a signaling pathway mediated by extracellular signal-regulated kinase (ERK) (KWON *et al.*, 2016; TUPS *et al.*, 2012). In this case, leptin activates two MAPKs, ERK1 or ERK2, which are a group of protein kinases specific to the amino acids serine, threonine and tyrosine. The SHP2-ERK1/2 cascade plays a role in energy homeostasis, sympathetic activation of brown adipose tissue and promotes the anorectic and weight-reducing effects of leptin (RAHMOUNI *et al.*, 2009).

Instead, if the Tyr 1077 residue or Tyr residue 1038 is phosphorylated, it leads to an activation of STAT-5 or STAT-3, respectively. STAT molecules are cytoplasmic proteins that when phosphorylated, dimerize and translocate to the nucleus, modulating the transcription of genes involved in energy balance and food intake. For instance, agouti-related protein (AgRP), neuropeptide Y (NPY) and pro-opiomelanocortin (POMC) are appetite-regulating neuropeptides enabled by STAT-3.

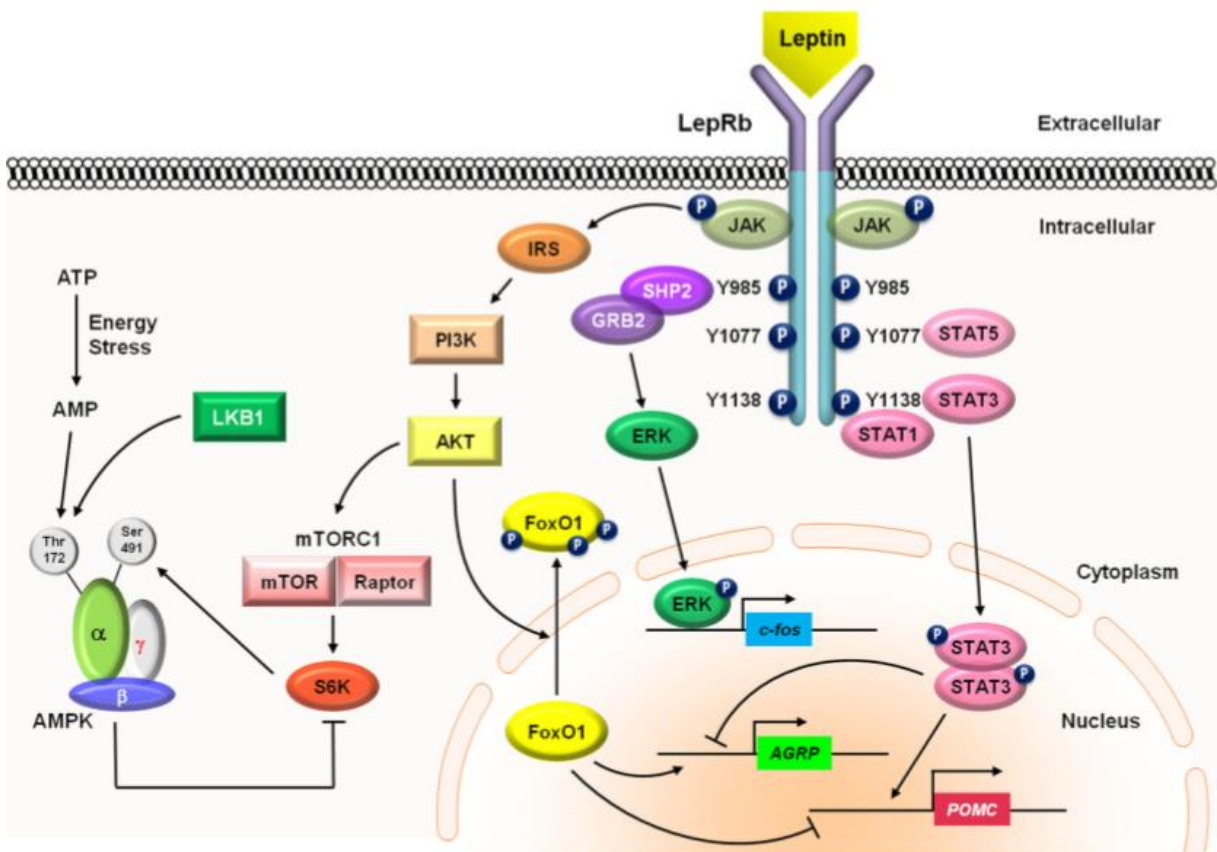


Figure 2 - Main intracellular pathways activated by the long isoform of leptin receptor (LepR). AgRP, agouti-related peptide; AKT, ak strain transforming/protein kinase; AMP, adenosine monophosphate; AMPK, adenosine monophosphate-activated protein kinase; ATP, Adenosine triphosphate; *c-fos*, proto-oncogene; ERK, extracellular signal-regulated kinase; FoxO1, forkhead box protein O1; GRB2, growth factor receptor-binding protein; IRS, insulin receptor substrate; JAK, janus kinase 2; LepR, leptin receptor; LKB1, liver kinase B1; PI3K, phosphatidylinositol-3-kinase; mTOR, mammalian target of rapamycin; mTORC1, mammalian target of rapamycin complex 1; POMC, pro-opiomelanocortin; S6K, p70 S6 kinase; SHP-2, src-homology-2 containing phosphotyrosine phosphatase 2; STAT, signal transducer and activator of transcription (KWON *et al.*, 2016).

The neurotransmitters and/or neuropeptides that mediate the actions of leptin in the CNS are anorexigenic or orexigenic. AgRP and NPY, synthesized in neurons of the hypothalamic arcuate nucleus (ARC), are potent orexigenic peptides, so they increase appetite, food intake and reduce energy expenditure. In contrast, POMC is a protein cleaved by prohormone convertases to originate the anorexigenic α -melanocyte stimulating hormone (α -MSH). Anorexigenic peptides are linked to the mechanism of reduction of food intake and

increased energy expenditure, such as POMC but also cocaine and amphetamine regulated transcript (CART) (HUO *et al.*, 2004). In the aforementioned process, leptin inhibits the expression of orexigenic AgRP and NPY, and activates the expression of anorexigenic POMC, resulting in reduced food intake (BATES *et al.*, 2003). Thereby, the regulation of these neuropeptides in the hypothalamus controls the mechanism through which leptin influences energy metabolism.

However, STAT-3 also controls the transcription of a suppressor of cytokine signaling 3 (SOCS3), which is a protein that inhibits the activation of leptin-STAT signaling cascade by creating a feedback loop (BJØRBÆK *et al.*, 1999). Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) is also a negative regulator of leptin signaling through dephosphorylation of JAK2 (KWON *et al.*, 2016). Therefore, the JAK-STAT3 pathway is crucial for the preservation of energy homeostasis, while the JAK-STAT5 pathway intervenes on leptin regulation of reproduction and energy balance (PATTERSON *et al.*, 2012).

Furthermore, phosphorylation of IRS by JAK2 activates PI3K, which is another signaling pathway activated by leptin in the hypothalamus (Figure 2). Afterwards, PI3K phosphorylates phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate and forms phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate, which associates the activity of this enzyme with vital downstream pathways that depend on Akt, a serine/threonine-specific protein kinase for activation, such as Akt-FoxO1 and Akt-mTOR (KWON *et al.*, 2016).

The Akt-activated transcription factor forkhead box protein O1 (FoxO1) intermediates the anorectic effects of leptin and insulin by regulating the transcription of POMC and AgRP. Once activated, FoxO1 inhibits the ability of leptin to induce anorexia and to stimulate POMC transcription. Therefore, reduced FoxO1 activity via leptin is important for leptin-mediated feeding regulation (KITAMURA *et al.*, 2006).

On the other hand, leptin can increase hypothalamic mammalian target of rapamycin (mTOR) through the activation of PI3K-Akt signaling. This will lead to the activation of its downstream target ribosomal protein S6 kinase beta (S6K1), which then phosphorylates serine 491 of the α 2-subunit of adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) and inhibits AMPK activity (COTA *et al.*, 2006). Consequently, the inhibition of AMPK by leptin increases energy expenditure and induces a reduction of food intake and body weight. In addition to feeding regulation, mTOR can mediate the sympathetic and cardiovascular effects of leptin (HARLAN *et al.*, 2013).

To conclude, STAT3, STAT5, Akt, mTOR, S6K1 and MAPK are classic upregulating modulators of leptin signaling, while downregulating modulators include SOCS3, PTP1B, FoxO1 and AMPK.

2.2 Factors regulating leptin synthesis

There are several factors regulating leptin biosynthesis and secretion (Figure 3). In this regard and as it was already mentioned, this hormone is synthesized by white adipose tissue in proportion to the number and size of adipocytes. Hence, adipocyte size and consequently body fat percentage are the main components that regulate *ob* gene expression (FRIEDMAN & HALAAS, 1998). Consequently, leptin levels oscillate according to changes in nutritional state, because obesity or feeding can increase its levels while fasting decreases them.

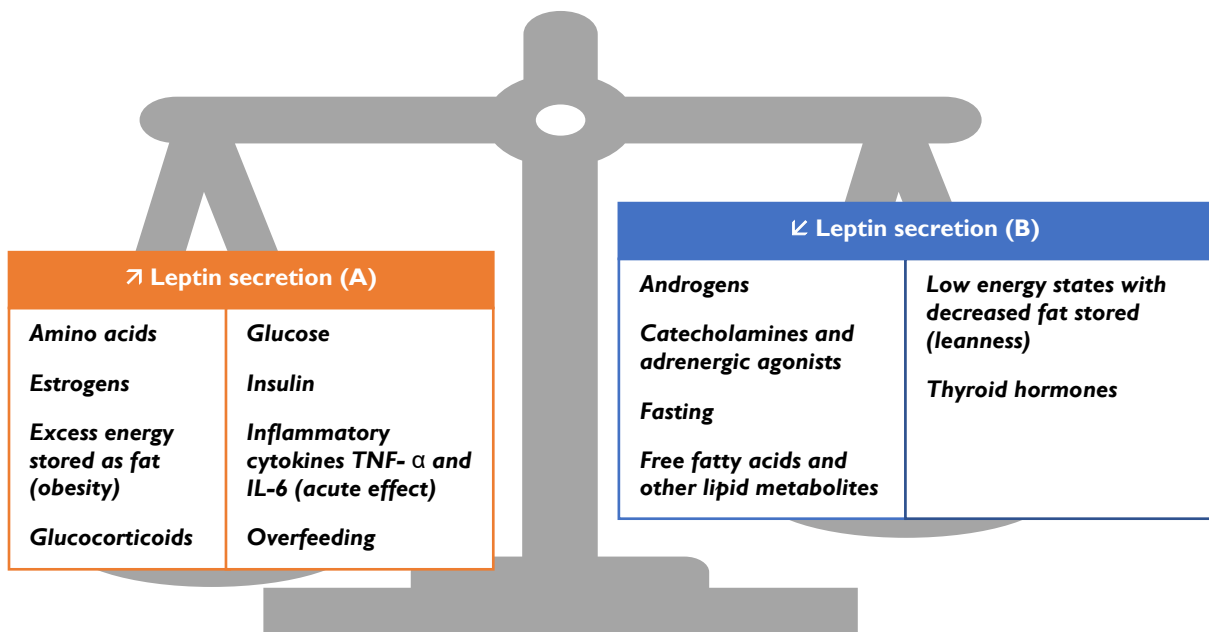


Figure 3 - Factors that regulate circulating leptin levels. Factors promoting leptin secretion (A) and factors inhibiting leptin secretion (B). IL, interleukin; TNF- α , tumor necrosis factor- α .

Furthermore, leptin concentrations display sexual dimorphism. Women experience a substantial decline in circulating leptin levels after menopause. However, men have lower leptin levels than women, regardless of factors such as body mass index (BMI). This difference may be due to the action of sex hormones, namely inhibition of leptin expression by testosterone and stimulation of leptin expression by estrogen, but also to variations of body fat and fat mass distribution. Indeed, women tend to accumulate more subcutaneous adipose tissue than men, where an increased leptin synthesis occurs (MONTAGUE *et al.*, 1997; ROSENBAUM *et al.*, 1996; SAAD *et al.*, 1997).

Numerous other factors can affect leptin secretion. For example, glucocorticoids, insulin and glucose are responsible for increasing leptin levels. In contrast, catecholamines and thyroid hormones reduce leptin secretion. Interestingly, pro-inflammatory cytokines tumor necrosis factor- α (TNF- α) and IL-6 increase leptin levels but also the expression of SOCS3, which attenuates LepR signaling (BJØRBÆK *et al.*, 1999; MOON *et al.*, 2013). This will

contribute to the development of leptin resistance and chronic inflammation in obesity, as explained in the following sections.

Leptin secretion is additionally influenced by biological rhythms, namely the circadian rhythm (Figure 4). The circadian rhythm is created by a central clock placed in the hypothalamic suprachiasmatic nucleus that regulates peripheral clocks in other tissues via circadian output pathways, according to external environmental cues. The feedback loops of circadian genes operate in central and peripheral clocks, using transcription factors CLOCK/BMAL1 or NPAS2/BMAL1 (MOHAWK *et al.*, 2012). Recently, Kettner *et al.* confirmed that the mammalian circadian clock is important to maintain long-term energy balance. This is achieved through the circadian homeostasis of a leptin-mediated neuroendocrine feedback loop between the brain and adipose tissue (KETTNER *et al.*, 2015).

The central clock is responsible for maintaining the balance between energy expenditure and food intake, since it potentiates the response of LepRb-expressing ARC neurons to circulating leptin. On the other hand, in adipose tissue, the BMAL/CLOCK heterodimer modulates the most potent leptin transcriptional activator, CCAAT-enhancer-binding protein alpha (C/EBP α) (Figure 4). Such control allows a direct regulation of circadian leptin transcription that drives diurnal oscillations of plasma leptin levels (HOLLENBERG *et al.*, 1997; HUANG *et al.*, 2011). Thus, circulating leptin concentrations reach the highest plasma levels between midnight and early morning hours, and lowest levels around noon to midafternoon (BLUHER & MANTZOROS, 2009).

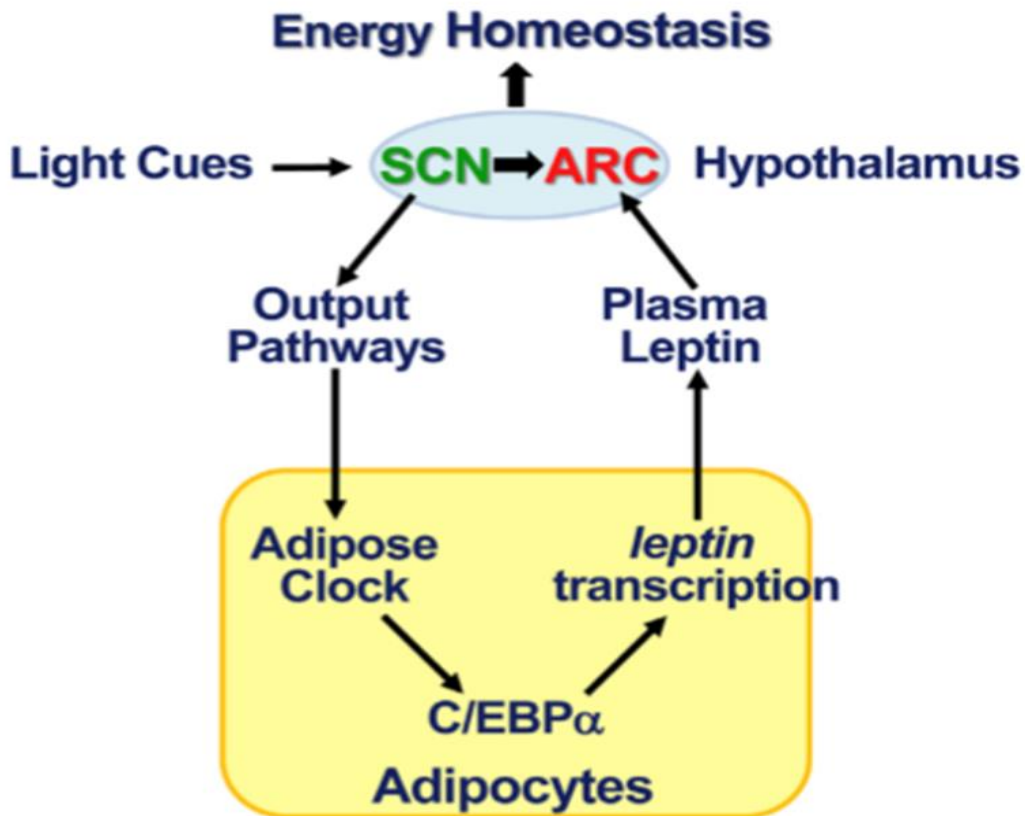


Figure 4 - Circadian control of leptin neuroendocrine feedback loop. ARC, arcuate nucleus; C/EBP α , CCAAT-enhancer-binding protein alpha; SCN, hypothalamic suprachiasmatic nucleus (KETTNER *et al.*, 2015).

Under normal physiological conditions, environmental signals allow central and peripheral clocks to perform their activities. However, circadian disruption interferes in the rhythm of leptin plasma concentrations, regardless of changes in external environmental cues. Therefore, alterations of the circadian rhythm of the human body, for example through jet lag or shift work, modify clock activities. Peripheral clocks lose the ability to regulate the transcription of leptin, which alters energy balance, causes weight gain and consequently increases circulating levels of leptin. Meanwhile, in the central clock, circadian disorders will desensitize the LepRb-expressing ARC neurons that potentiated leptin signaling, ultimately resulting in leptin resistance. Hence, chronic circadian dysfunction, which is increasingly associated with today's societies, contributes to the serious problem of obesity (KETTNER *et al.*, 2015).

2.3 Physiological effects

As aforementioned, leptin is no longer just an anti-obesity hormone that controls body weight. Instead, several other biological functions were discovered in peripheral tissues (RAMOS-LOBO & DONATO, 2017). These functions are summarized in Table I.

The specific role of leptin in energy homeostasis involves the adjustment of food intake and energy expenditure (Table IA), which is achieved through the release of anorexigenic (POMC, α -MSH) or orexigenic (AgRP and NPY) peptides, as stated in section 2.1. In this context, leptin receptors are not uniformly distributed throughout the brain but concentrated primarily in three specific areas of the hypothalamus (ARC, dorsomedial hypothalamic nucleus, paraventricular nucleus), the midbrain, and brainstem (SCOTT *et al.*, 2009). The hypothalamic ARC contains lateral ARC neurons that express POMC whereas medial ARC neurons express AgRP and NPY (GAUTRON *et al.*, 2015). Leptin activates anorexigenic POMC neurons (COWLEY *et al.*, 2001), which produce α -MSH, thereby encouraging energy expenditure and satiety (Table IA) (ELMQUIST *et al.*, 2005; MORTON *et al.*, 2006). On the other hand, leptin inhibits AgRP neurons, leading to an increase in energy utilization and a decrease of food intake (Table IA) (APONTE *et al.*, 2011; COWLEY *et al.*, 2001; MORTON *et al.*, 2006). Lastly, the dorsomedial hypothalamic nucleus is constituted by a population of LepRb neurons that have a crucial role controlling feeding and energy balance (Table IA) (FLAK & MYERS, 2015). Note that ARC and dorsomedial hypothalamic nucleus, in addition to having reciprocal connections with each other, also have a strong connection with paraventricular nucleus of hypothalamus to improve energy homeostasis.

Indeed, food intake is regulated cooperatively by motivational circuits that modulate the phase of food seeking and initiation of feeding, as well as systems that mediate satiety to terminate feeding. Caloric restriction activates motivation, enhances locomotor motion, food seeking behavior and finally, the consumption of food. These motivational behaviors are controlled by the mesolimbic dopamine system, which contains a series of dopamine neurons in the midbrain ventral tegmental area (BERTHOUD, 2012). Leptin has the ability to act on LepRb neurons in the lateral hypothalamic area to modulate the mesolimbic dopamine system. Therefore, LepRb neurons from the lateral hypothalamus control dopamine neurons in the ventral tegmental area that regulate the mesolimbic dopamine system and, ultimately, the motivated behavior (Table IA) (FULTON *et al.*, 2000).

Table I - Physiological functions of leptin. (AHIMA *et al.*, 1996; APONTE *et al.*, 2011; COWLEY *et al.*, 2001; ELMQUIST *et al.*, 2005; FLAK & MYERS, 2015; GAUTRON *et al.*, 2015; GAVRILOVA *et al.*, 2002; HOWARD *et al.*, 2004; LEE *et al.*, 2006; MATOCHIK *et al.*, 2005; MILLER *et al.*, 1998; MOON *et al.*, 2013; MORTON *et al.*, 2006; SCOTT *et al.*, 2009; SHIMOMURA *et al.*, 1999).

PHYSIOLOGICAL EFFECTS OF LEPTIN	CONSEQUENCES
A. ENERGY HOMEOSTASIS	<ul style="list-style-type: none"> ↙ food intake and appetite ↗ energy expenditure and sensation of satiety
B. IMMUNE FUNCTION	<ul style="list-style-type: none"> ↗ cytotoxicity, cell proliferation and ↙ apoptosis of NK cells ↗ activation, pro-inflammatory cytokine release (e.g. TNF-α, IL-6), phagocytosis and chemotaxis of macrophages ↗ maturation, migration and ↙ apoptosis and Th1 priming of dendritic cells ↗ chemotaxis of neutrophils ↗ proliferation and differentiation of naive T cells into Th cells ↙ proliferation Treg cells ↗ proliferation and activation of B cells to release anti-inflammatory cytokines
C. NEUROENDOCRIN E REGULATION	<ul style="list-style-type: none"> ↗ Levels of thyroid hormones (TRH, TSH, T3 and T4) ↗ Levels of reproductive hormones (FSH and LH) ↗ IGF-I and ↗ GH
D. BRAIN DEVELOPMENT AND NEURONAL PLASTICITY	<ul style="list-style-type: none"> ↗ DNA content and brain weight ↗ Migration of neurons to cortical plate ↗ Outgrowth of hypothalamic ARC neurites ↗ Stability of glial and synaptic markers ↗ Synaptic plasticity
E. METABOLISM	<ul style="list-style-type: none"> ↙ Glycemia ↙ Dyslipidemia ↗ Insulin sensitivity

ARC, arcuate nucleus; DNA, deoxyribonucleic acid; FSH, follicle-stimulating hormone; GH, growth hormone; IGF-I, insulin-like growth factor I; IL-interleukin; LH, luteinizing hormone; NK, natural killer; T3, triiodothyronine; T4, thyroxine; Th, helper T cells; TNF- α , tumor necrosis factor- α ; Treg, regulatory T cells; TSH, thyroid-stimulating hormone.

Lastly, in the nucleus of the solitary tract at the brainstem, leptin acts on LepRb neurons to promote satiety and meal termination. It also establishes reciprocal connections with the hypothalamic nuclei to control food intake (Table IA) (HUO *et al.*, 2007).

Besides energy homeostasis, leptin has important roles in innate and adaptive immune responses (Table IB). For instance, it binds to its receptor on monocytes and macrophages, promoting neutrophil chemotaxis, phagocytosis by macrophages and increasing the production of pro-inflammatory cytokines, such as TNF- α , IL-6 and IL-12, which will be important in obesity-associated inflammation. Through the PL3K and MAPK-dependent signaling pathway, leptin protects neutrophils from apoptosis, while the activation of the Akt pathway allows leptin to regulate the maturation of dendritic cells. Moreover, stimulation of STAT3 pathway leads to activation and cytotoxicity of natural killer cells (Table IB). In order to control the adaptive immune response, leptin promotes the differentiation of naive T cells into helper T cells (Table IB). Finally, leptin activates B cells to release anti-inflammatory cytokine IL-10 and pro-inflammatory cytokines IL-6 and TNF- α via JAK2/STAT3 and MAPK signaling (MOON *et al.*, 2013).

In relation to neuroendocrine regulation (Table IC), during starvation, there is a rapid fall in leptin levels before loss of fat mass. This decline of leptin concentration causes an adaptive mechanism of energy conservation, which both in mice and humans, triggers a series of neuroendocrine responses. Thus, the decline of leptin produces direct or indirect effects on the paraventricular nucleus and preoptic area. These responses lead to a series of events, namely a decrease in the levels of thyroid hormones in the paraventricular nucleus, which in turn, lower the metabolic rate; a suppression of reproductive hormones in the preoptic area that reduces fertility and probability of pregnancy (AHIMA *et al.*, 1996; MILLER *et al.*, 1998); a decrease of insulin-like growth factor I levels that might lower growth-related procedures in rodents and humans; and a decrease of growth hormone to assemble energy supplies in humans (AHIMA *et al.*, 2000). Nevertheless, only when circulating leptin levels decrease under a certain level, does it exert a significant physiological response (DARDENO *et al.*, 2010).

Some of leptin's effects on brain development and neuronal plasticity are depicted in Table ID. Studies performed in mice lacking leptin (*ob/ob*) demonstrate the importance of this hormone in early neuron development. However, it was proved by MATOCHIK *et al.* (2005) that in a status of leptin deficiency in adults, its administration increases the production of gray matter in the cerebellum, the inferior parietal lobe and anterior cingulate gyrus. In the hypothalamus, it was found that leptin may also be responsible for stimulating synaptic plasticity and the rearrangement of synaptic connections, through the restoration of excitatory and inhibitory synapse numbers of orexigenic and anorexigenic neurons. This may also contribute to the regulation of long-term energy homeostasis (RAMOS-LOBO & DONATO, 2017).

To conclude, leptin acts directly on the ARC and on LepRb neurons of the ventromedial nucleus of the hypothalamus to repress glucose secretion and to stimulate its disposal, thereby regulating glycaemia (Table 1E). Furthermore, studies have been done in mice and humans with lipoatrophy. In these cases, the administration of leptin and the introduction of white adipose tissue by transplantation have shown to improve insulin sensitivity (LEE *et al.*, 2006; REITMAN *et al.*, 2002; SHIMOMURA *et al.*, 1999; XU *et al.*, 2011).

2.4 Access to the central nervous system

The CNS microenvironment is protected from peripheral influences by the BBB, formed by cerebral endothelial cells and other elements of the neurovascular unit; the blood-cerebrospinal fluid barrier (BCSFB) at choroid plexus epithelial cells; and the arachnoid barrier (ABBOTT, 2013). There are 3 different types of routes from which leptin can enter the CNS and reach ARC and non-ARC LepRb neurons: transport across the BBB, access through circumventricular organs (CVOs) and tanycyte transport (Figure 5).

Since leptin is a large polypeptide, it cannot enter the CNS via BBB by passive diffusion. Alternatively, leptin crosses the BBB using a saturable energy-dependent transcytosis system (Figure 5A). In *in vitro* studies it was reported that leptin transcytosis at the BBB is independent of the binding between leptin and LepRb. An anti-LepRb neutralizing antibody was used to block the interaction between them, but it failed to inhibit leptin translocation across the BBB. It was suggested that this role may be attributed to lipoprotein receptor-related protein-2 (GONZALEZ-CARTER *et al.*, 2016), which is involved in leptin transport across the BCSFB (DIETRICH *et al.*, 2008). In contrast to LepRb, short LepR isoforms are highly expressed in brain endothelial cells and choroid plexus, particularly LepRa and LepRc (BANKS *et al.*, 2002). Additionally, it is believed that LepRa levels may be a limiting factor of leptin transport across BBB when endogenous leptin levels are high, or supraphysiological levels of recombinant leptin are administered (HARRISON *et al.*, 2018). So, this mechanism likely allows leptin transport from the bloodstream, across the BBB, to different sites of central action (GONZALEZ-CARTER *et al.*, 2016).

In certain brain regions called circumventricular organs fenestrated capillaries are found close to the ventricular space, where cerebrospinal fluid (CSF) circulates. These include the median eminence (ME), a CVO at the bottom of the mediobasal hypothalamus. Therefore, the mechanism of leptin passage through CVOs enables a direct access to a population of ARC neurons close to fenestrated capillaries (perivascular space) and adjacent brain regions that are not shielded by the BBB (Figure 5B).

The border between the ARC and ME is constituted by tanycytes, which are specialized glial cells connected via tight junctions. Hence, leptin transport through tanycytes is probable, due to this tanycyte ME/ARC barrier that separates the ARC from the bloodstream. Indeed, neurons near the ME are well positioned to respond to circulating signals such as leptin. Firstly, in response to fasting stimulus, leptin diffuses up to ARC-ME barrier neurons, through the extension of the fenestrated capillaries. Then, it is transported into the CSF by tanycytes from where it can reach LepRb target neurons (Figure 5C). In addition to this, when ARC LepRb neurons project through the tanycyte barrier to the ME, direct binding of these neurons to circulating leptin becomes possible. Thus, this mechanism allows leptin transport through tanycytes into the CSF in the ventricular space and then to the ARC LepRb neurons or non-ARC LepRb neurons. The fact that ARC LepRb neurons possess a unique anatomical position makes them more vulnerable to develop leptin resistance, while other leptin target sites remain sensitive. Therefore, since tanycyte-mediated leptin transport is prone to leptin resistance, an improvement in this mechanism of transport may restore leptin sensitivity and counteract resistance (MÜNZBERG & MORRISON, 2015).

Further knowledge about leptin transcytosis through the BBB is needed, as it will provide more evidence for the treatment of obesity, given that some studies point towards an impaired leptin transport in this disease. Additional clarification would also aid the design of penetrant leptin analogues and peptides into the brain. Likewise, a clearer identification of the leptin transporter would improve our understanding of the relationship between leptin effects and BBB permeability, as well as of the transcytosis process of this hormone (GONZALEZ-CARTER *et al.*, 2016).

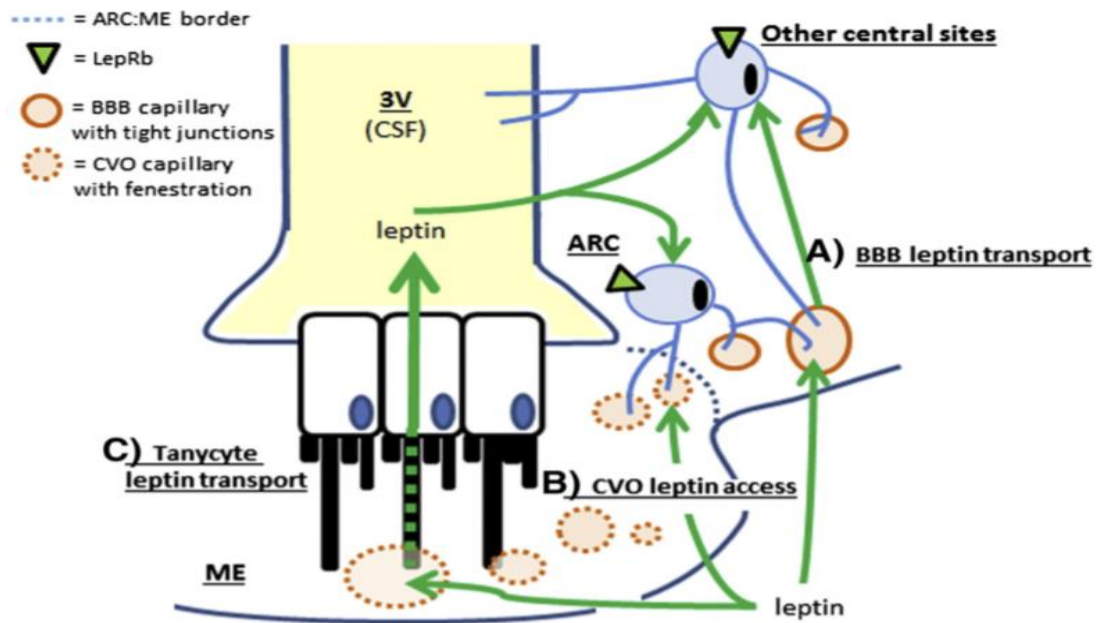


Figure 5 - Mechanisms of leptin access to the central nervous system. Transport across the blood-brain barrier (BBB) (A) access through circumventricular organs (CVOs) (B) and tanycyte leptin transport (C). ARC, arcuate nucleus; CSF, cerebrospinal fluid; LepRb, leptin receptor; ME, median eminence; 3V, third ventricle (MÜNZZBERG & MORRISON, 2015).

3. Leptin relevance in different pathologies

3.1 Obesity

The increase in the prevalence of obesity has become one of the biggest public health problems. It is defined as an excess of adipose tissue in relation to lean mass (muscle, bones and organs) (CALLE *et al.*, 2003). A crude population measure of obesity is the BMI, calculated by weight (in kilograms) divided by height squared (square meters). A BMI of 25-29 kg/m² or higher than 30 kg/m² is considered overweight. Obesity is frequently subdivided into three categories: Class 1, BMI of 30 to 35; Class 2, BMI of 35 to 40 and Class 3, BMI of 40 or higher. Class 3 is categorized as “extreme” or “severe” obesity (GRUNDY, 2004). This condition is a major risk factor for several chronic diseases, including type 2 diabetes mellitus, atherosclerosis, cardiovascular diseases and cancer (KETTNER *et al.*, 2015). Even though it was once considered a problem only in high income countries, obesity is now dramatically on the rise in low- and middle-income countries, particularly in urban settings. Excessive food intake and sedentary life habits are considered the main causes of this pathology, however physical exercise and a balanced diet have not been enough to fight obesity (STURM & HATTORI, 2013). This suggests that new approaches are needed to regulate energy balance (NG & POPKIN, 2012).

As previously referred, leptin is an adipokine with anorectic effects, capable of inducing appetite loss and energy expenditure through communication with the CNS. In turn, this leads

to weight loss and maintenance of energy balance. Mice with lack of LepRb (*db/db*) or leptin (*ob/ob*) tend to develop metabolic comorbidities and obesity. The action of exogenous leptin in diet-induced obese and *ob/ob* mice suppresses food intake and body weight (HALAAS *et al.*, 1995). Notwithstanding, in *db/db* mice no response is obtained after leptin administration, since the problem is at the level of the LepRb receptor and not in the deficit of this hormone (CAMPFIELD *et al.*, 1995). Given that most obese humans respond to exogenous and endogenous leptin in the same way as *db/db* mice, leptin resistance is one of the most regular characteristics featuring obesity. The mechanisms associated with leptin resistance are not yet fully understood, although it is presumably related to deficient hypothalamic autophagy, ER stress, hypothalamic inflammation, impairment of leptin signaling in hypothalamic neurons, and impairment of leptin access to the CNS through the BBB.

Hypothalamic autophagy plays a key role in the regulation of the energy balance, since is necessary for the physiological functioning of anorectic hypothalamic POMC-releasing neurons and orexigenic AgRP-releasing neurons. The inhibition of this process by a neuron-specific deletion of autophagy-related protein 7, an essential autophagy gene, in POMC neurons, showed that mice become obese. Conversely, deletion of autophagy-related protein 7 in the AgRP neurons, contributes to a decrease of fat mass. Therefore, deficient hypothalamic autophagy leads to leptin resistance and obesity (KAUSHIK *et al.*, 2011; QUAN *et al.*, 2012).

The ER is a luminal organelle responsible for the synthesis, maturation, folding and transport of proteins. A perturbation of these procedures, for example an imbalance between the ER folding mechanism and the amount of protein loaded, leads to the emergence of ER stress and activation of several signaling pathways (MARCINIAK & RON, 2006; ZHANG *et al.*, 2008). OZCAN *et al.* (2009) showed that ER stress and the unfolded protein response pathway in the hypothalamus are capable of inhibiting LepRb signaling and are associated to leptin resistance in obesity.

Furthermore, high-fat diet feeding, and obesity generate an increased inflammation both in the hypothalamus and in peripheral tissues. This results in a stimulation of the expression of pro-inflammatory cytokines (IL-6 and TNF- α) as well as in an activation of inflammatory signaling pathways in the CNS (DE SOUZA *et al.*, 2005; MATTACE RASO *et al.*, 2013; MATTACE RASO *et al.*, 2014). Accordingly, ZHANG *et al.* (2008) discovered that IKK β /NF- κ B, a master switch and central controller of innate immunity in the hypothalamus, modulates insulin and leptin resistance. The enhanced production of PTP1B caused by TNF- α and the positive regulation of SOCS3 in hypothalamic IKK β /NF- κ B, show that hypothalamic

inflammation is a potential promoter of leptin resistance in obesity (ZHANG *et al.*, 2008), since both SOCS3 and PTP1B suppress leptin signaling.

Concerning the changes in the signaling cascade of leptin as the cause of resistance, there are 3 potential mechanisms. One of them corresponds to the decrease in the expression of LepRb caused by a lower transport of this receptor to the plasma membrane (RAHMOUNI *et al.*, 2008). The second potential mechanism is related to the negative regulators of leptin signaling, SOCS3 and PTP1B (STEINBERG *et al.*, 2004). If the action of leptin signaling inhibitors is potentiated, leptin sensitivity will decrease and consequently, resistance increases. Indeed, HOWARD *et al.* (2004) found that heterozygous SOCS3-deficient mice exhibit improved leptin sensitivity and protection from the development of diet-induced obesity. Moreover, PTP1B knockout mice reveal higher sensitivity to leptin and insulin and are resistant to high-fat diet-induced obesity (BENCE *et al.*, 2006). The third mechanism involves a reduction in the positive regulators of leptin signaling, such as STAT3, MATTACE *et al.* (2014) highlighted that STAT3 phosphorylation decreased at the same time as the onset of leptin resistance.

Finally, leptin transport into the CNS is also seen as an important cause of leptin resistance (BANKS *et al.*, 2004). This hypothesis was mostly reinforced by studies of radioactively labeled leptin transport into the brain that showed a decrease in blood-CSF leptin ratios (BANKS *et al.*, 1999). Similarly, EL-HASCHIMI (2000) did a series of experiments with leptin administration by peripheral (intraperitoneal) and central (intracerebral ventricular) routes, which also indicated a visible reduction of leptin transport by peripheral route, after 15 weeks of high fat diet. However, HARRISON *et al.* (2018) performed a recent study in order to understand if the BBB transport of leptin is one of the causes for leptin resistance in obese individuals. In order to achieve this, the authors used a 3D image of a mouse brain observed through lightsheet fluorescence microscopy. It was observed that leptin levels in ME or mediobasal hypothalamus were similar in either lean mice or diet-induced obese mice, so there were no differences in leptin accumulation. This was discrepant from previous data (HARRISON *et al.*, 2018). Even so, both, this study by HARRISON *et al.* (2018) and an earlier study by BALLAND *et al.* (2014) reported that after leptin administration, there was an increase of pSTAT3 in the mediobasal hypothalamus. Thus, there appears to be sufficient transport of leptin to stimulate central signaling of this hormone (BALLAND *et al.*, 2014; OTTAWAY *et al.*, 2015). One of the reasons for the discrepancy in these results was the fact that BANKS *et al.* (1999) determined CSF leptin concentrations and thus evaluated the transport of this hormone via BCSFB, while HARRISON *et al.* (2018) evaluated transport across BBB. Another reason is because BALLAND *et al.* (2014) and BANKS *et al.* (1999) conducted studies focused on the kinetics of leptin transport. In opposition, HARRISON *et al.*

(2018) made the measurements at a fixed time point to allow maximum leptin accumulation in the mediobasal hypothalamus. Therefore, the ratio between circulating leptin levels and leptin crossing the CNS were not evaluated (HARRISON *et al.*, 2018). Nevertheless, these data are in accordance with KLEINERT *et al.* (2018), who carried out leptin measurements on the mediobasal hypothalamus for 6 hours in mice fed chow or a high-fat diet. This study also revealed normal leptin transport through the BBB in leptin resistant mice (KLEINERT *et al.*, 2018).

Given that some of the factors that contribute to leptin resistance are already known, it is now important to understand how to overcome these problems and increase the sensitivity to leptin. Some of these strategies are included in Table 2.

Table 2 - Strategies to reverse leptin resistance and restore its sensitivity.

APPROACHES TO OVERCOME LEPTIN RESISTANCE	CLINICAL AND EXPERIMENTAL ASPECTS	REFERENCES
COMBINATION OF LEPTIN WITH “LEPTIN SENSITIZERS”	↗ glucose homeostasis and lipid profile ↘ food consumption and body weight in diet-induced obesity animals and in humans	(ARONNE <i>et al.</i> , 2007; DARDENO <i>et al.</i> , 2010; LUTZ, 2006; RAVUSSIN <i>et al.</i> , 2009; ROTH <i>et al.</i> , 2008; TREVASKIS <i>et al.</i> , 2010)
REVERSAL OF ER STRESS	↘ food intake and body weight in diet-induced obesity mice ↗ insulin sensitivity and glucose homeostasis, using chemical chaperones* (4-phenylbutyrate and tauroursodeoxycholic acid) ↗ STAT3 phosphorylation, through an inhibitor of serotonin uptake (fluvoxamine)	(HOSOI <i>et al.</i> , 2012; JEONG <i>et al.</i> , 2013; ROPELLE <i>et al.</i> , 2010; XIAO <i>et al.</i> , 2011; ZHOU <i>et al.</i> , 2013)
EXERCISE AND CALORIC RESTRICTION	↘ hyperleptinemia and SOCS3 transcription, restoration of STAT3 and AMPK activation in ARC nucleus in high-fat diet animals	(MURAKAMI <i>et al.</i> , 1995)
STIMULATION INCREASE OF LepRb EXPRESSION	↘ hyperleptinemia and body weight, restoration of leptin sensitivity in ovariectomized obese rats and in other mouse models of obesity	(BYUN <i>et al.</i> , 2014; MELI <i>et al.</i> , 2004; RASO <i>et al.</i> , 2014)

REVERSAL OF SOCS3 AND PTP1B

↙ food intake and body weight and ↗ (BHATTARAI *et al.*, 2010; leptin sensitivity in diet-induced GU *et al.*, 2009; QIN *et al.*, obesity mice through hypothalamic 2015)
SOCS3 or PTP1B deletion
↙ of food intake, body weight and ↗
insulin sensitivity in diet-induced obesity mice through the inhibition of PTP1B

*Chemical chaperones are low molecular weight compounds that stabilize misfolded proteins and improve cells protein-folding capacity, facilitating the traffic of mutant proteins, increasing protein secretion and reducing ER stress.

AMPK, 5' adenosine monophosphate-activated protein kinase; ARC, arcuate nucleus ER, endoplasmic reticulum; PTP1B, protein tyrosine phosphatase 1B; SOCS3, suppressor of cytokine signaling 3; STAT, signal transducer and activator of transcription.

Although several promising strategies to combat obesity-associated leptin resistance have been shown, more information is needed to understand and develop anti-obesity therapy.

3.2 Lipodystrophy

Lipodystrophy is a condition characterized by the selective loss of adipose tissue (Figure 6). It can be congenital (gene mutation) or acquired during life. Acquired lipodystrophy can be idiopathic or caused by therapeutics (e.g. antiretroviral drugs). Within each type (congenital or acquired), this disorder can be further subdivided into partial or generalized. Partial lipodystrophy occurs when there is loss of subcutaneous fat in body extremities but preservation in the head, neck and torso. Generalized lipodystrophy implies an almost total loss of fat, although in some individuals there is fat accumulation in the feet, hands and face. There may be an increase in the abdominal perimeter caused by fat infiltration into the liver, both in partial and generalized lipodystrophy (GARG, 2011; GARG, 2014).



Figure 6 - Common genetic forms of lipodystrophy. Congenital generalized lipodystrophy (A), congenital generalized lipodystrophy (B) and familial partial lipodystrophy (C) (LIGHTBOURNE & BROWN, 2017).

Regardless of lipodystrophy type, it is usually associated with metabolic complications, such as diabetes, dyslipidemia, extreme insulin resistance and reproductive dysfunctions linked to polycystic ovarian syndrome or hypothalamic disorder. The choice of therapy used for the treatment of lipodystrophy is usually related to its metabolic consequences and therefore includes insulin, oral antidiabetics and lipid lowering agents, always associated to a healthy lifestyle with exercise and a balanced diet (LIGHTBOURNE & BROWN, 2017; TCHANG *et al.*, 2015)

Lipodystrophy is one of the conditions characterized by leptin deficiency (PAZ-FILHO *et al.*, 2011). Therefore, the administration of leptin may be a good therapeutic strategy for this pathology. In agreement, a leptin-based treatment was recently approved for patients with generalized lipodystrophy: metreleptin.

Metreleptin is recombinant methionyl human leptin and the only pharmaceutical form of leptin that is currently available and accepted as human therapy. Myalept™ was approved by the Food and Drug Administration (FDA) in 2014 and European Medicines Agency (EMA) in 2018. It is the treatment of choice for congenital or acquired generalized lipodystrophy in adults and children over 2 years of age, and congenital or acquired partial lipodystrophy in

adults and children over 12 years old. It is administered once or twice a day at the same time every day, subcutaneously, and the dose varies according to body weight and gender (maximum daily dose of 0.13 mg/kg if body weight \leq 40 kg, and 10 mg/day if body weight >40 kg) (SPC Myalept™).

Metreleptin improves the metabolic parameters associated with lipodystrophy, thus leading to a decrease in fasting plasma glucose, glycated hemoglobin HbA1c, fasting insulin, total cholesterol, LDL-cholesterol and serum triglycerides. In addition, this drug has been shown to have beneficial effects on the liver, with the reduction of alanine transaminase, aspartate transaminase and mean liver volume (SIMHA, 2014). The FDA did not approve metreleptin for the treatment of generalized human immunodeficiency virus-associated lipodystrophy, although improvements in some metabolic parameters and reduced visceral fat had been demonstrated in these patients (FOO & MANTZOROS, 2012; PARUTHI *et al.*, 2013; SEKHAR *et al.*, 2012).

In conclusion, more clinical trials with metreleptin are needed to understand its potential in other pathologies associated with low or high levels of leptin.

3.3 Depression

Depression is a common and significant public health condition, impacting approximately more than 300 million people around the world (MURRAY *et al.*, 2012). It is a mental disorder, characterized by a series of physical and psychological problems affecting patients and their families. A depressive episode can be categorized as mild, moderate or severe, depending on the number and severity of symptoms. Its symptoms include feelings of helplessness and hopelessness; loss of energy and interest in daily activities; appetite, weight or sleep changes; anger or irritability, lack of confidence and self-esteem; concentration problems; reckless behavior; and unexplained pains. This illness results from a complex interaction of several factors: environmental, genetic and endocrine (HILL *et al.*, 2012). Although the etiological and pathophysiological characteristics of depression are not yet fully known, their mechanisms imply dysfunction of neurotrophic factor control, neuronal genesis in hippocampus and monoamine transmission (DUMAN & LI, 2012; GARDNER & BOLES, 2011). To treat mild depression there are psychosocial treatments, while for moderate and severe depression there are psychological treatments (e.g. cognitive behavioral therapy) or antidepressant medication. However, these treatments have restrictions in terms of onset time and efficacy. For example, antidepressants take several weeks or even months to accomplish remission and present several side effects such as weight gain, acute nausea and

sexual dysfunction (ABDALLAH *et al.*, 2016; IRVING & HARVEY, 2014) Therefore, it is necessary to improve therapeutic approaches for this debilitating disability.

LepRb is widely distributed in the brain, suggesting neural functions besides energy balance regulation. Impairment in LepRb leads to cognitive and memory failures, accompanied by changes in synaptic plasticity of the hippocampus. The mechanisms of neural plasticity in the brain explain numerous features of depression and the effects of antidepressants. As stated in Table 1, leptin modulates neuroplasticity, via hippocampal synaptic plasticity, neurogenesis or neurotrophic effects. Therefore, it may display antidepressant effects and become a possible therapeutic target for the treatment of depression (MOULT *et al.*, 2010).

Leptin regulates the efficacy of hippocampal synaptic transmission, which includes long-term inhibition and long-term potentiation. Nonetheless, different doses of leptin showed inconsistent hippocampal synaptic functions, given that lower and higher doses inhibit long-term potentiation, while intermediate doses directly stimulate long-term potentiation in the hippocampus memory and learning zone (WAYNER *et al.*, 2004).

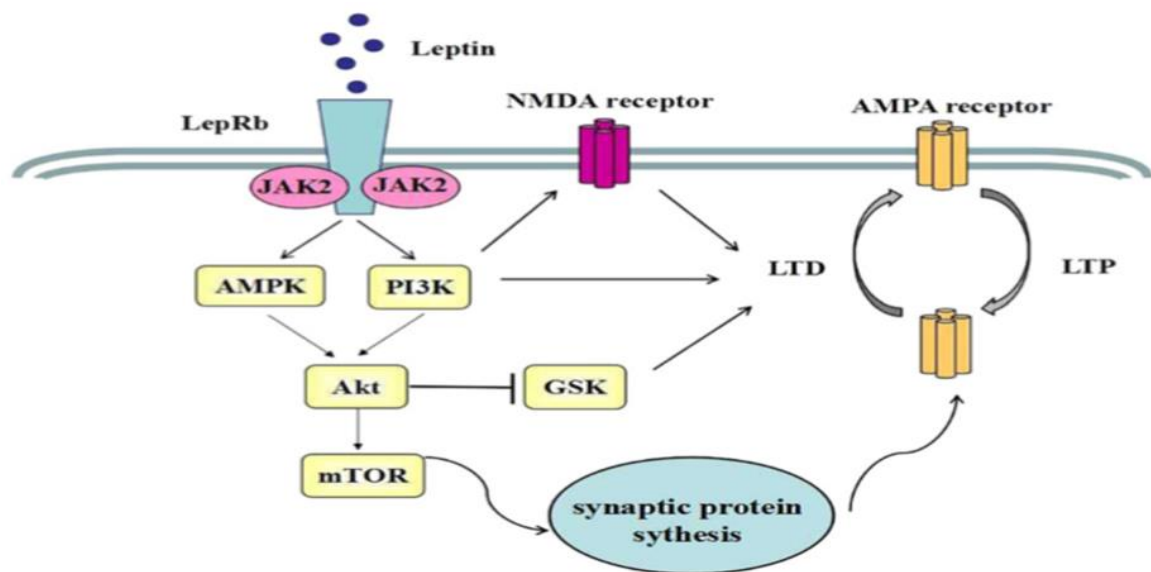


Figure 7 - Role of leptin on hippocampal synaptic plasticity. Akt, serine/threonine-specific protein kinase; AMPA, α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid; AMPK, adenosine monophosphate-activated protein kinase; JAK, janus kinase; GSK, glycogen synthase kinase; LepR, leptin receptor; LTD, long-term depression; LTP, long-term potentiation; NMDA, N-methyl-D-aspartate; mTOR, mammalian target of rapamycin; PI3K, phosphatidylinositol 3-kinase (GE *et al.*, 2018).

In Figure 7, leptin binds to LepRb, phosphorylates JAK2 and consequently activates the PI3K/Akt and AMPK/Akt signaling pathways. Both pathways inhibit glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β) activity and can trigger mTOR activation. Activation of mTOR encourages synthesis of synaptic proteins and synaptogenesis, i.e. formation of new synapses and maturation of old synapses (DUMAN *et al.*, 2016). PI3K stimulation increases N-methyl-D-

aspartate (NMDA) receptor-dependent long-term depression and enhances α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) receptor exocytosis, which subsequently potentiates excitatory synaptic transmission (GUO *et al.*, 2012).

Leptin can also exert antidepressant effects through neurogenesis in the hypothalamus and other brain regions (BOURET, 2010), as it is demonstrated in Figure 8.

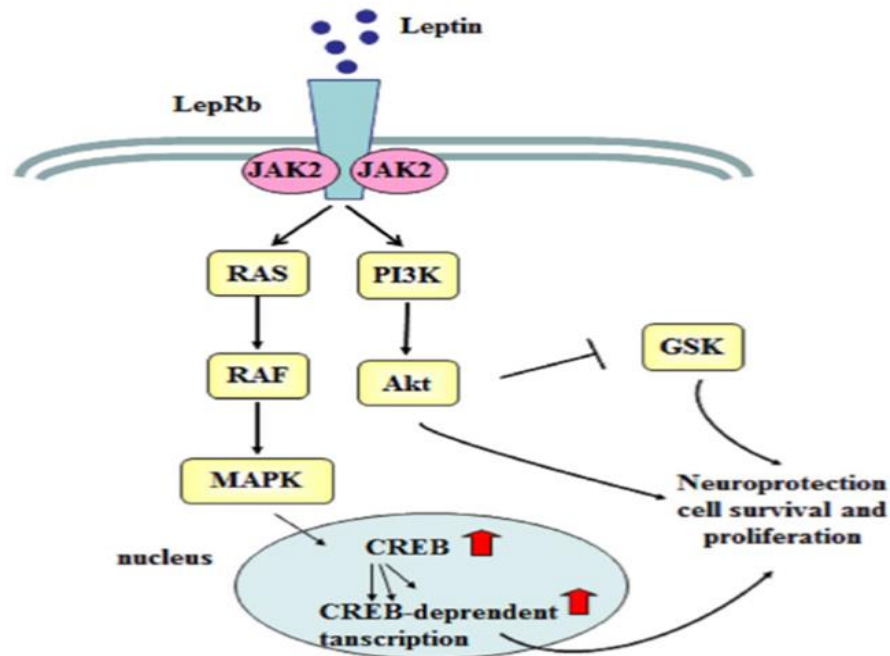


Figure 8 - Leptin's effect on neurogenesis. Akt, serine/threonine-specific protein kinase; CREB, cAMP-response element binding protein; GSK, glycogen synthase kinase; JAK, janus kinase; LepR, leptin receptor; MAPK, mitogen-activated protein kinase PI3K, phosphatidylinositol 3-kinase; RAF, rapidly accelerated fibrosarcoma; RAS, reticular activating system (GE *et al.*, 2018).

Leptin binds to LepRb resulting in the phosphorylation and activation of PI3K/Akt signaling pathway which in turn, will inhibit glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β) activity. GSK-3 β inhibition increases β -catenin, a primary substrate of GSK-3 β signaling and stability. This culminates in the accumulation of β -catenin, followed by its translocation into the nucleus and interaction with transcription factors, ultimately resulting in an increase of the expression of cell proliferation genes (GARZA *et al.*, 2011). LepRb also promotes activation of the MAPK-signaling pathway, which subsequently leads to cAMP-response element binding protein (CREB) phosphorylation and initiation of CREB-dependent transcription. This equally induces cell proliferation genes, because CREB is a protein with a crucial regulatory function for neuroprotection, cell survival and synaptic events dependent on neurotrophic factors (DHAR *et al.*, 2014).

To finalize, leptin plays a neurotrophic role in the CNS by counteracting the harmful effects produced by several neurotoxic factors, such as exposure to excitotoxic glutamate, ischemia, and accumulation of amyloid- β (DOHERTY *et al.*, 2013; ZHANG *et al.*, 2007;

ZHANG *et al.*, 2012). To exert these neuroprotective actions, leptin activates downstream JAK2/STAT3, MAPK/ERK, PI3K/Akt, SHP-2/SOCS3 and STAT5 pathways. IWASA *et al.* (2016) showed evidence that leptin increases the hippocampal expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) through activation of the MAPK/ERK and GSK-3 β / β -catenin signal transduction cascades. Thus, it exerts an effect on BDNF functions, which is decreased in depression and increased by antidepressant drugs. In a state of obesity, leptin resistance is present and hippocampal BDNF expression is reduced, favoring depressive states (YAMADA *et al.*, 2011). Likewise, increasing leptin sensitivity in obesity might restore BDNF function and improve depression-like behaviors (GE *et al.*, 2018).

In summary, leptin has shown antidepressant-like properties through its significant role on neuroplasticity and neurogenesis, acting directly as neurotrophic factor or indirectly via BDNF. Taken together, it is possible to conclude that this adipokine is a potential therapeutic target for the treatment of depression.

4. Intranasal administration of leptin

One of the pharmacological limitations of an intravenous administration of leptin is its short half-life. A leptin analog with a longer half-life would be more effective, in order to exert the same effect as leptin at the CNS. However, this type of analogue might not have the desired effect in conditions where endogenous leptin levels are elevated, since the transport through the BBB is saturable. This is the case of obesity, in which there is leptin resistance (FAMING *et al.*, 2005; ZHANG *et al.*, 2005). FLIEDNER *et al.* (2006) hypothesized that the intranasal administration of leptin could circumvent the BBB, even in the presence of high levels of leptin in circulation. Thus, it would allow the direct delivery of this polypeptide into the brain tissue by a non-saturable transport mechanism. Nevertheless, it would also induce significantly less, if any, peripheral uptake compared to other administration routes (FLIEDNER *et al.*, 2006).

SCHULZ *et al.* (2004) conducted a study in lean rats to see if intranasal leptin could affect their metabolism. It was performed using male Wistar rats administered daily with 0.1 or 0.2 mg/kg of intranasal leptin for 4 weeks. The following results were obtained: in ARC, orexigenic neuropeptide NPY mRNA expression is decreased and rats to which leptin was administered showed a decrease in food and water intake and did not gain as much weight as control rats. Additionally, since leptin concentrations in blood remained intact, it is possible to affirm that this peptide has direct action on the CNS after bypassing the BBB. This produced weight loss metabolic effects in lean rats. Therefore, this particular route of administration

could have interest in a state of leptin resistance, for example, in animal or human obesity (SCHULZ *et al.*, 2004).

In another study, SCHULZ *et al.* (2012) wanted to test if in diet-induced obesity animals administered with intranasal leptin, metabolic effects such as weight reduction would be obtained. Studies were conducted with diet induced obesity and lean rats treated with 0.1-0.2 mg/kg of intranasal leptin, or control solution, daily, for 4 weeks. Leptin levels, serum insulin and blood glucose were measured before and after treatment whereas, body weight and energy intake were measured every day. In addition, expression of hypothalamic neuropeptides was evaluated through real-time polymerase chain reaction. Thereafter, the results of the study were: a reduction in appetite and body weight, in both lean and diet-induced obesity animals; an inhibition of orexigenic neuropeptides NPY and AgRP; and an activation of anorectic neuropeptides POMC and CART. In contrast, no differences were found regarding insulin and glucose levels. Finally, no alterations in serum leptin were observed in either case, indicating no substantial displacement from the nasal cavity into the blood. Overall, these data reveal that in diet-induced obesity rats there is sufficient bioavailability of leptin into the CNS after intranasal application. Consequently, this administration route can reduce appetite and induce weight loss, not only in lean animals but also in diet-induced obesity and could be a strategy to implement leptin as a therapeutic tactic in obesity (SCHULZ *et al.*, 2012). For instance, YUAN *et al.* (2017) modified the N-terminal amine of leptin with Pluronic P85 (LepNP85) and used intranasal delivery of this conjugate to reach the brain, by circumventing the BBB, for the treatment of obesity. This conjugation aimed to maximize its homogeneity and preserve binding affinity to LepRb.

Obesity-related sleep-disordered breathing is a syndrome characterized by hypoventilation and obstructive sleep apnea, which do not possess any effective therapy (PEPPARD *et al.*, 2013). In turn, leptin is a hormone capable of relieving upper airway obstruction and stimulating respiratory controls in the brain (BERGER & POLOTSKY, 2018). Thus, it would be expected that leptin may have therapeutic potential to treat this disorder. Nevertheless, given that in a state of obesity there is resistance to leptin, this adipokine cannot produce the proper effect. Therefore, BERGER *et al.* (2018) carried out a study in diet-induced obesity mice to test whether intranasal leptin is effective against obesity-related sleep-disordered breathing. It was observed that intraperitoneal leptin has no respiratory effect, whereas intranasal leptin can effectively improve hypoventilation during sleep and upper airway obstruction in obese mice. Its effects occur through synaptic connections between leptin receptor expressing cells and phrenic and hypoglossal motoneurons, which confirmed leptin signaling via STAT3 phosphorylation. These findings suggest that intranasal leptin can be tested

as a potential therapeutic approach in obesity-related sleep-disordered breathing patients (BERGER & POLOTSKY, 2018; IP & MOKHLESI, 2018).

Lastly, leptin has been connected to the mesolimbic system, since low leptin levels in the circulation have been observed in some mood disorders. NETO *et al.* (2016) conducted a study in mice to see if intranasal administration of leptin mediates monoamine neurotransmitters in the nucleus accumbens. Using Wistar rats, it was demonstrated that intranasal leptin dose-dependently increased the extracellular amount of dopamine and serotonin in nucleus accumbens. On the other hand, in LepR-deficient Zucker rats, intranasal leptin administration of 0.12 mg/kg did not increase dopamine or serotonin levels. Furthermore, leptin administered in conjunction with the antagonist receptor of melanocortin blocked the increase of serotonin and dopamine in the nucleus accumbens. These observations indicate that intranasal administration of leptin depends on its dose, its receptors and the melanocortin system to increase serotonin and dopamine levels in the nucleus accumbens. Besides, leptin can also function as a serotonergic and dopaminergic reuptake inhibitor, allowing to link leptin with antidepressant-like behaviors (NETO *et al.*, 2016).

Therefore, intranasal application of leptin represents a valuable tool to administer leptin in a noninvasive way with rapid passage into the CNS. Consequently, it becomes very important to test this data in humans, in order to implement leptin as a therapeutic strategy in pathologies such as obesity, obesity-related sleep-disordered breathing and depression.

5. Conclusion

Leptin is an adipocyte-derived hormone that is a key regulator of food intake and energy homeostasis. At first, it was thought that leptin would be just an anti-obesity hormone, but since its discovery, many other physiological functions were found, including reproduction, hematopoiesis, blood pressure regulation, bone mass, lymphoid organ homeostasis and angiogenesis. Therefore, leptin can play an important role in the treatment of various pathologies, such as those previously mentioned: obesity, lipodystrophy and depression.

So far, only one drug, metreleptin, which is a recombinant methionyl human leptin, has been marketed for congenital or acquired lipodystrophy. However, given the potential of leptin mentioned above, further *in vivo* studies and human clinical trials are needed in order to make the most of this hormone.

One of the major limitations of leptin administration in obesity is leptin resistance. However, in rat models, it has been shown that intranasal administration of this polypeptide enables it to reach the brain without crossing the BBB, in contrast to intravenous administration, and thus exert its effect. Hence, it could be interesting to perform pilot studies in humans, to see if the same result is obtained and to be able to develop alternative therapeutic approaches for this pathology.

References

- ABBOTT, N. J. - **Blood-brain barrier structure and function and the challenges for CNS drug delivery.** Journal of Inherited Metabolic Disease. 36, 3 (2013) 437-449.
- ABDALLAH, C. G., ADAMS, T. G., KELMENDI, B., ESTERLIS, I., SANACORA, G., & KRYSTAL, J. H. - **Ketamine'S Mechanism of Action: a Path To Rapid-Acting Antidepressants.** Depression and Anxiety. 33, 8 (2016) 689-697.
- AHIMA, R. S., SAPER, C. B., FLIER, J. S., & ELMQUIST, J. K. - **Leptin regulation of neuroendocrine systems.** Frontiers in Neuroendocrinology. 21, 3 (2000) 263-307.
- AHIMA, R. S., PRABAKARAN, D., MANTZOROS, C., QU, D., LOWELL, B., MARATOS-FLIER, E., & FLIER, J. S. - **Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting.** Letters to nature. 382 (1996) 250-252.
- ANN, M., CULLEN, M. J., BAKER, M. B., HECHT, R., WINTERS, D., BOONE, T., & COLLINS, F. - **Effects of the Obese Gene Product on Body Weight Regulation in Ob / Ob Mice.** Advancement Of Science. 269, 5223 (2010) 540-543.
- APONTE, Y., ATASOY, D., & STERNSON, S. M. - **AGRP neurons are sufficient to orchestrate feeding behavior rapidly and without training.** Nature Neuroscience. 14, 3 (2011) 351-355.
- ARONNE, L., FUJIOKA, K., ARODA, V., CHEN, K., HALSETH, A., KESTY, N. C., BURNS, C., LUSH, C. W., WEYER, C. - **Progressive reduction in body weight after treatment with the amylin analog pramlintide in obese subjects: A phase 2, randomized, placebo-controlled, dose-escalation study.** Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 92, 8 (2007) 2977-2983.
- BALLAND, E., DAM, J., LANGLET, F., CARON, E., STECULORUM, S., MESSINA, A., RASIKA, S., FALLUEL-MOREL, A., ANOUAR, Y., DEHOUCQ, B., TRINQUET, E., JOCKERS, R., BOURET, S. G., PRÉVOT, V. - **Hypothalamic tanycytes are an ERK-gated conduit for leptin into the brain.** Cell Metabolism, 19, 2 (2014) 293-301.
- BANKS, W. A., BJØRBÆK, C., FLIER, J. S., HILEMAN, S. M., MASUZAKI, H., EL-HASCHIMI, K., & PIERROZ, D. D. - **Characterization of Short Isoforms of the Leptin Receptor in Rat Cerebral Microvessels and of Brain Uptake of Leptin in Mouse Models of Obesity.** Endocrinology. 143, 3 (2002) 775-783.
- BANKS, W. A., COON, A. B., ROBINSON, S. M., MOINUDDIN, A., SHULTZ, J. M., NAKAOKE, R., & MORLEY, J. E. - **Triglycerides Induce Leptin Resistance at the**

- Blood-Brain Barrier.** Diabetes. 53, 5 (2004) 1253-1260.
- BANKS, W. A., DIPALMA, C. R., & FARRELL, C. L. - **Impaired transport of leptin across the blood-brain barrier in obesity.** Peptides. 20, 11 (1999) 1341-1345.
- BATES, S. H., STEARNS, W. H., DUNDON, T. A., SCHUBERT, M., TSO, A. W. K., WANG, Y., BANKS, A. S., LAVERY, H. J., HAQ, A. K., MARATOS-FLIER, E., NEEL, B. G., SCHWARTZ, M. W., MYERS, M. G. - **STAT3 signalling is required for leptin regulation of energy balance but not reproduction.** Nature. 421, 6925 (2003) 856-859.
- BENCE, K. K., DELIBEGOVIC, M., XUE, B., GORGUN, C. Z., HOTAMISLIGIL, G. S., NEEL, B. G., & KAHN, B. B. - **Neuronal PTP1B regulates body weight, adiposity and leptin action.** Nature Medicine. 12, 8 (2006) 917-924.
- BERGER, S., & POLOTSKY, V. Y. - **Leptin and Leptin Resistance in the Pathogenesis of Obstructive Sleep Apnea: A Possible Link to Oxidative Stress and Cardiovascular Complications.** Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2018 (2018) 1-8.
- BERTHOUD, H. R. - **The neurobiology of food intake in an obesogenic environment.** Proceedings of the Nutrition Society. 71, 4 (2012) 478-487.
- BHATTARAI, B. R., KAFLE, B., HWANG, J. S., HAM, S. W., LEE, K. H., PARK, H., HAN, I., CHO, H. - **Novel thiazolidinedione derivatives with anti-obesity effects: Dual action as PTP1B inhibitors and PPAR- γ activators.** Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters. 20, 22 (2010) 6758-6763.
- BJØRBÆK, C., EL-HASCHIMI, K., FRANTZ, J. D., & FLIER, J. S. **The role of SOCS-3 in leptin signaling and leptin resistance.** Journal of Biological Chemistry. 274, 42 (1999) 30059-30065.
- BJØRBÆK, C., ELMQUIST, J. K., MICHL, P., AHIMA, R. S., VAN BUEREN, A., MCCALL, A. L., FLIER, J. S. - **Expression of Leptin Receptor Isoforms in Rat Brain Microvessels.** Endocrinology. 139, 8 (1998) 3485-3491.
- BJØRBÆK, C., UOTANI, S., DA SILVA, B., & FLIER, J. S. - **Divergent signaling capacities of the long and short isoforms of the leptin receptor.** Journal of Biological Chemistry. 272, 51 (1997) 32686-32695.
- BLUHER, S., MANTZOROS, A. - **Leptin in humans: lessons from translational research.** The American Journal of Clinical Nutrition. (2009) 991S-997S.

- BOURET, S. G. - **Neurodevelopmental actions of leptin.** Brain Research. 1350 (2010) 2-9.
- BYUN, K., GIL, S. Y., NAMKOONG, C., YOUN, B.-S., HUANG, H., SHIN, M.-S., KANG, G. M., KIM, H.-K., LEE, B., KIM, Y.-B., KIM, M.-S. - **Clusterin/ApoJ enhances central leptin signaling through Lrp2-mediated endocytosis.** EMBO Reports. 15, 7 (2014) 801-808.
- CALLE, E. E., RODRIGUEZ, C., WALKER-THURMOND, K., & THUN, M. J. - **Overweight, Obesity, and Mortality from Cancer in a Prospectively Studied Cohort of U.S. Adults.** (2003) 2747-2757.
- CAMPFIELD, L. A., SMITH, F. J., GUISEZ, Y., DEVOS, R., & BURN, P. - **Recombinant Mouse OB Protein: Evidence for a Peripheral Signal Linking Adiposity and Central Neural.** Proc. Physiol. Soc. 140, 1976 (1995) 87-96.
- CARO, J. F., SINHA, M. K., KOLACZYNSKI, J. W., ZHANG, P. L., & CONSIDINE, R. V. - **Leptin: The tale of an obesity gene.** Diabetes. 45, 11 (1996) 1455-1462.
- COTA, D., PROULX, K., BLAKE SMITH, K. A., KOZMA, S. C., THOMAS, G., WOODS, S. C., & SEELEY, R. J. - **Hypothalamic mTOR signaling regulates food intake.** Science. 312, 5775 (2006) 927-930.
- COWLEY, M. A., SMART, J. L., RUBINSTEIN, M., GERDÁN, M. G., DIANO, S., HORVATH, T. L., CONE, R. D., LOW, M. J. - **Leptin activation of POMC neurons.** 411, 5 (2001).
- DALAMAGA, M., CHOU, S. H., SHIELDS, K., PAPAGEORGIOU, P., POLYZOS, S. A., & MANTZOROS, C. S. - **Leptin at the intersection of neuroendocrinology and metabolism: Current evidence and therapeutic perspectives.** Cell Metabolism. 18, 1 (2013) 29-42.
- DARDENO, T. A., CHOU, S. H., MOON, H. S., CHAMBERLAND, J. P., FIORENZA, C. G., & MANTZOROS, C. S. - **Leptin in human physiology and therapeutics.** Frontiers in Neuroendocrinology. 31, 3 (2010) 377-393.
- DE SOUZA, C. T., ARAUJO, E. P., BORDIN, S., ASHIMINE, R., ZOLLNER, R. L., BOSCHERO, A. C., SAAD, M. J. A., VELLOSO, L. A. - **Consumption of a fat-rich diet activates a proinflammatory response and induces insulin resistance in the hypothalamus.** Endocrinology. 146, 10 (2005) 4192-4199.
- DHAR, M., ZHU, M., IMPEY, S., LAMBERT, T. J., BLAND, T., KARATSOREOS, I. N., NAKAZAWA, T., APPELYARD, S. M., WAYMAN, G. A. - **Leptin Induces**

- Hippocampal Synaptogenesis via CREB-Regulated MicroRNA-132 Suppression of p250GAP.** *Molecular Endocrinology*. 28, 7 (2014) 1073-1087.
- DIETRICH, M. O., SPUCH, C., ANTEQUERA, D., RODAL, I., DE YÉBENES, J. G., MOLINA, J. A., BERMEJO, F., CARRO, E. - **Megalin mediates the transport of leptin across the blood-CSF barrier.** *Neurobiology of Aging*. 29, 6 (2008) 902-912.
- DOHERTY, G. H. - **Obesity and the Ageing Brain: Could Leptin Play a Role in Neurodegeneration?** *Current Gerontology and Geriatrics Research*. 2011 (2011) 1-8.
- DOHERTY, GAYLE H., BECCANO-KELLY, D., YAN, S. DU, GUNN-MOORE, F. J., & HARVEY, J. - **Leptin prevents hippocampal synaptic disruption and neuronal cell death induced by amyloid β .** *Neurobiology of Aging*. 34, 1 (2013) 226-237.
- DUMAN, R. S., AGHAJANIAN, G. K., SANACORA, G., & KRYSTAL, J. H. - **Synaptic plasticity and depression: New insights from stress and rapid-acting antidepressants.** *Nature Medicine*. 22, 3 (2016) 238-249.
- DUMAN, R. S., & LI, N. - **A neurotrophic hypothesis of depression: Role of synaptogenesis in the actions of NMDA receptor antagonists.** *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 367, 1601 (2012) 2475-2484.
- EL-HASCHIMI, K., PIERROZ, D. D., HILEMAN, S. M., BJØRBÆK, C., & FLIER, J. S. - **Two defects contribute to hypothalamic leptin resistance in mice with diet-induced obesity.** *Journal of Clinical Investigation*. 105, 12 (2000) 1827-1832.
- ELMQUIST, J. K., COPPARI, R., BALTHASAR, N., ICHINOSE, M., & LOWELL, B. B. - **Identifying hypothalamic pathways controlling food intake, body weight, and glucose homeostasis.** *Journal of Comparative Neurology*. 493, 1 (2005) 63-71.
- FLAK, J. N., & MYERS, M. G. - **Minireview: CNS Mechanisms of Leptin Action.** *Molecular Endocrinology*. 30, 1 (2015) 3-12.
- FLIEDNER, S., SCHULZ, C., & LEHNERT, H. - **Brain uptake of intranasally applied radioiodinated leptin in Wistar rats.** *Endocrinology*. 147, 5 (2006) 2088-2094.
- FOO, J. P., & MANTZOROS, C. S. - **Leptin in congenital or HIV-associated lipodystrophy and metabolic syndrome: A need for more mechanistic studies and large, randomized, placebo-controlled trials.** *Metabolism: Clinical and Experimental*. 61, 10 (2012) 1331-1336.
- FRANCISCO, V., PINO, J., CAMPOS-CABALEIRO, V., RUIZ-FERNÁNDEZ, C., MERA, A.,

- GONZALEZ-GAY, M. A., GÓMEZ, R., GUALILLO, O. - **Obesity, fat mass and immune system: Role for leptin.** *Frontiers in Physiology*. 9 (2018) 1-20.
- FRIEDMAN, J. M., & HALAAS, J. L. - **Leptin and the regulation of body weight in mammals.** (1998) 763-770.
- FULTON, S., WOODSIDE, B., & SHIZGAL, P. - **Modulation of Brain Reward Circuitry by Leptin.** *Science*. 287, 5450 (2000) 125-128.
- GARDNER, A., & BOLES, R. G. - **Beyond the serotonin hypothesis: Mitochondria, inflammation and neurodegeneration in major depression and affective spectrum disorders.** *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 35, 3 (2011) 730-743.
- GARG, A. - **Acquired and Inherited Lipodystrophies.** *Obesity and Metabolism*. 2 (2014) 42.
- GARG, A. - **Lipodystrophies: Genetic and acquired body fat disorders.** *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 96, 11 (2011) 3313-3325.
- GARZA, J. C., GUO, M., ZHANG, W., & LU, X. Y. - **Leptin restores adult hippocampal neurogenesis in a chronic unpredictable stress model of depression and reverses glucocorticoid-induced inhibition of GSK-3B/B-catenin signaling.** *Molecular Psychiatry*. 17, 8 (2011) 790-808.
- GAUTRON, L., ELMQUIST, J. K., & WILLIAMS, K. W. - **Neural control of energy balance: Translating circuits to therapies.** *Cell*. 161, 1 (2015) 133-145.
- GAVRILOVA, O., MARCUS-SAMUELS, B., LEON, L. R., VINSON, C., & REITMAN, M. L. - **Leptin and diabetes in lipoatrophic mice.** *Nature*. 403, 6772 (2002) 850-850.
- GE, T., FAN, J., YANG, W., CUI, R., & LI, B. - **Leptin in depression: a potential therapeutic target.** *Cell Death and Disease*. 9, 11 (2018) 1-10.
- GONZALEZ-CARTER, D., GOODE, A. E., FIAMMENGO, R., DUNLOP, I. E., DEXTER, D. T., & PORTER, A. E. - **Inhibition of Leptin–ObR Interaction Does not Prevent Leptin Translocation Across a Human Blood–Brain Barrier Model.** *Journal of Neuroendocrinology*. 28, 6 (2016).
- GRUNDY, S. M. - **Obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular disease.** *Pediatric Research*. 61, 6 (2004) 653-659.
- GU, H., LIU, L., MA, S., LIU, Y., REN, Y., ZHAI, L., YU, F., AN, L., YANG, J. - **Inhibition of**

- SOCS-3 in adipocytes of rats with diet-induced obesity increases leptin-mediated fatty acid oxidation.** *Endocrine*. 36, 3 (2009) 546-554.
- GUO, M., LU, Y., GARZA, J. C., LI, Y., CHUA, S. C., ZHANG, W., LU, B., LU, X. Y. - **Forebrain glutamatergic neurons mediate leptin action on depression-like behaviors and synaptic depression.** *Translational Psychiatry*. (2012) 2.
- HAGLUND, E., SULKOWSKA, J. I., NOEL, J. K., LAMMERT, H., ONUCHIC, J. N., & JENNINGS, P. A. - **Pierced Lasso Bundles Are a New Class of Knot-like Motifs.** *PLoS Computational Biology*. 10, 6 (2014).
- HALAAS, J. L., GAJIWALA, K. S., MAFFEI, M., COHEN, S. L., CHAIT, B. T., RABINOWITZ, D., LALLONE, R. L., BURLEY, S. K., FRIEDMAN, J. M. - **Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene.** *Science*. 269, 5223 (1995) 543-546.
- HARLAN, S. M., GUO, D. F., MORGAN, D. A., FERNANDES-SANTOS, C., & RAHMOUNI, K. - **Hypothalamic mTORC1 signaling controls sympathetic nerve activity and arterial pressure and mediates leptin effects.** *Cell Metabolism*. 17, 4 (2013) 599-606.
- HARRISON, L., SCHRIEVER, S. C., FEUCHTINGER, A., KYRIAKOU, E., BAUMANN, P., PFUHLMANN, K., MESSIAS, A. C., WALCH, A., TSCHÖP, M. H., PFLUGER, P. T. - **Fluorescent blood-brain barrier tracing shows intact leptin transport in obese mice.** *International Journal of Obesity*. (2012).
- HILL, M. N., HELLEMANS, K. G. C., VERMA, P., GORZALKA, B. B., & WEINBERG, J. - **Neurobiology of chronic mild stress: Parallels to major depression.** *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 36, 9 (2012) 2085-2117.
- HOLLENBERG, A. N., SUSULIC, V. S., MADURA, J. P., ZHANG, B., MOLLER, D. E., TONTONOZ, P., SARRAFI, P., SPIEGELMAN, B. M., LOWELL, B. B. - **Functional antagonism between CCAAT/enhancer binding protein- α and peroxisome proliferator-activated receptor- γ on the leptin promoter.** *Journal of Biological Chemistry*. 272, 8 (1997) 5283-5290.
- HOSOI, T., MIYAHARA, T., KAYANO, T., YOKOYAMA, S., & OZAWA, K. - **Fluvoxamine attenuated endoplasmic reticulum stress-induced leptin resistance.** *Frontiers in Endocrinology*. 3 (2012) 1-5.
- HOWARD, J. K., CAVE, B. J., OKSANEN, L. J., TZAMELI, I., BJOØRBÆK, C., & FLIER, J. S. -

- Enhanced leptin sensitivity and attenuation of diet-induced obesity in mice with haploinsufficiency of Socs3.** *Nature Medicine*. 10, 7 (2004) 734-738.
- HUANG, W., RAMSEY, K. M., MARCHEVA, B., & BASS, J. - **Review series Circadian rhythms , sleep , and metabolism.** *Journal of Clinical Investigation*. 121, 6 (2011) 2133-2141.
- HUO, L., MAENG, L., BJØRBÆK, C., & GRILL, H. J. - **Leptin and the control of food intake: Neurons in the nucleus of the solitary tract are activated by both gastric distension and leptin.** *Endocrinology*. 148, 5 (2007) 2189-2197.
- HUO, L., MÜNZBERG, H., NILLNI, E. A., & BJØRBAEK, C. - **Role of signal transducer and activator of transcription 3 in regulation of hypothalamic trh gene expression by leptin.** *Endocrinology*. 145, 5 (2004) 2516-2523.
- IP, M. S. M., & MOKHLESI, B. - **Activating Leptin Receptors in the Central Nervous System Using Intranasal Leptin. A Novel Therapeutic Target for Sleep-disordered Breathing.** *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 199, 6 (2018) 689-691.
- IRVING, A. J., & HARVEY, J. - **Leptin regulation of hippocampal synaptic function in health and disease.** *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 369, 1633 (2014).
- IWASA, T., MATSUZAKI, T., YANO, K., MUNKHZAYA, M., TUNGALAGSUV, A., YILYASI, M., KUWAHARA, A., IRAHARA, M. - **Developmental changes in the hypothalamic mRNA expression levels of brain-derived neurotrophic factor and serum leptin levels: Their responses to fasting in male and female rats.** *International Journal of Developmental Neuroscience*. 54 (2016) 1-5.
- JEONG, Y.T., KIM, Y. D., JUNG, Y.M., PARK, D.C., LEE, D.S., KU, S.K., LI, X., LU, Y., CHAO, G. H., KIM, K.J., LU, J.Y., BAEK, M.C., KANG, W., HWANG, S.L., CHANG, H. W. - **Low Molecular Weight Fucoidan Improves Endoplasmic Reticulum Stress-Reduced Insulin Sensitivity through AMP-Activated Protein Kinase Activation in L6 Myotubes and Restores Lipid Homeostasis in a Mouse Model of Type 2 Diabetes.** *Molecular Pharmacology*. 84, 1 (2013) 147-157.
- HOUSEKNECHT, K. L., MANTZOROS, C. S., KULIAWAT, R., HADRO, E., FLIER, J. S., KAHN, B. B. - **Evidence for leptin binding to proteins in serum of rodents and humans: Modulation with obesity.** *Diabetes*. (1996).

- KAUSHIK, S., RODRIGUEZ-NAVARRO, J. A., ARIAS, E., KIFFIN, R., SAHU, S., SCHWARTZ, G. J., CUERVO, A. M., SINGH, R. - **Autophagy in hypothalamic agrp neurons regulates food intake and energy balance.** Cell Metabolism. 14, 2 (2011) 173-183.
- KETTNER, N. M., MAYO, S. A., HUA, J., LEE, C., MOORE, D. D., & FU, L. - **Circadian dysfunction induces leptin resistance in mice.** Cell Metabolism. 22, 3 (2015) 448-459.
- KITAMURA, T., FENG, Y., KITAMURA, Y. I., CHUA, S. C., XU, A. W., BARSH, G. S., ROSSETTI, L., ACCILI, D. - **Forkhead protein FoxO1 mediates Agrp-dependent effects of leptin on food intake.** Nature Medicine. 12, 5 (2006) 534-540.
- KLEINERT, M., KOTZBECK, P., ALTENDORFER-KROATH, T., BIRNGRUBER, T., TSCHÖP, M. H., & CLEMMENSEN, C. - **Time-resolved hypothalamic open flow micro-perfusion reveals normal leptin transport across the blood–brain barrier in leptin resistant mice.** Molecular Metabolism. 13 (2018) 77-82.
- KWON, O., KIM, K. W., & KIM, M. S. - **Leptin signalling pathways in hypothalamic neurons.** Cellular and Molecular Life Sciences. 73, 7 (2016) 1457-1477.
- LEE, J. H., CHAN, J. L., SOURLAS, E., RAPTOPOULOS, V., & MANTZOROS, C. S. - **Recombinant methionyl human leptin therapy in replacement doses improves insulin resistance and metabolic profile in patients with lipodystrophy and metabolic syndrome induced by the highly active antiretroviral therapy.** Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 91, 7 (2006) 2605-2611.
- LIGHTBOURNE, M., & BROWN, R. J. - **Genetics of Lipodystrophy.** Endocrinology and Metabolism Clinics of North America. 46, 2 (2017) 539-554.
- LIU, J., YANG, X., YU, S., & ZHENG, R. - **The leptin signaling.** Advances in Experimental Medicine and Biology. 1090 (2018) 123-144.
- LUTZ, T. A. - **Amylinergic control of food intake.** Physiology and Behavior. 89, 4 (2006) 465-471.
- MARCINIAK, S. J., & RON, D. - **Endoplasmic Reticulum Stress Signaling in Disease.** Physiological Reviews. 86, 4 (2006) 1133-1149.
- MATOCHIK, J. A., LONDON, E. D., YILDIZ, B. O., OZATA, M., CAGLAYAN, S., DEPAOLI, A. M., WONG, M.-L., LICINIO, J. - **Effect of leptin replacement on brain structure in genetically leptin-deficient adults.** Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 90, 5 (2005) 2851-2854.

- MATTACE RASO, G., SIMEOLI, R., IACONO, A., SANTORO, A., AMERO, P., PACIELLO, O., DI CARLO, C., DIANO, S., CALIGNANO, A., MELI, R. - **Effects of a Lactobacillus paracasei B21060 based synbiotic on steatosis, insulin signaling and toll-like receptor expression in rats fed a high-fat diet.** Journal of Nutritional Biochemistry. 25(1 (2014) 81-90.
- MATTACE RASO, G., SIMEOLI, R., RUSSO, R., IACONO, A., SANTORO, A., PACIELLO, O., FERRANTE, M. C., CANANI, R. B., CALIGNANO, A., MELI, R. - **Effects of Sodium Butyrate and Its Synthetic Amide Derivative on Liver Inflammation and Glucose Tolerance in an Animal Model of Steatosis Induced by High Fat Diet.** PLoS ONE. 8, 7 (2013) 1-13.
- MELI, R., PACILIO, M., RASO, G. M., ESPOSITO, E., COPPOLA, A., NASTI, A., DI CARLO, C., NAPPI, C., DI CARLO, R. - **Estrogen and raloxifene modulate leptin and its receptor in hypothalamus and adipose tissue from ovariectomized rats.** Endocrinology. 145, 7 (2004) 3115-3121.
- MILLER, K. K., PARULEKAR, M. S., SCHOENFELD, E., ANDERSON, E., HUBBARD, J., KLIBANSKI, A., & GRINSPOON, S. K. - **Decreased leptin levels in normal weight women with hypothalamic amenorrhea: The effects of body composition and nutritional intake.** Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 83, 7 (1998) 2309-2312.
- MOHAWK, J. A., GREEN, C. B., & TAKAHASHI, J. S. - **Central and Peripheral Circadian Clocks in Mammals.** Annual Review of Neuroscience. 35, 1 (2012) 445-462.
- MONTAGUE, C. T., PRINS, J. B., SANDERS, L., DIGBY, J. E., & O'RAHILLY, S. - **Depot- and sex-specific differences in human leptin mRNA expression: Implications for the control of regional fat distribution.** Diabetes. 46, 3 (1997) 342-347.
- MOON, H. S., DALAMAGA, M., KIM, S. Y., POLYZOS, S. A., HAMNVIK, O. P., MAGKOS, F., (et al.), MANTZOROS, C. S. - **Leptin's role in lipodystrophic and nonlipodystrophic insulin-resistant and diabetic individuals.** Endocrine Reviews. 34, 3 (2013) 377-412.
- MORTON, G. J., CUMMINGS, D. E., BASKIN, D. G., BARSH, G. S., & SCHWARTZ, M. W. - **Central nervous system control of food intake and body weight.** Nature. 443, 7109 (2006) 289-295.
- MOULT, P. R., CROSS, A., SANTOS, S. D., CARVALHO, A.-L., LINDSAY, Y., CONNOLLY,

- C. N., IRVING, A. J., LESLIE, N. R., HARVEY, J. - **Leptin Regulates AMPA Receptor Trafficking via PTEN Inhibition.** *Journal of Neuroscience.* 30, 11 (2010) 4088-4101.
- MÜNZBERG, H., MORRISON, C. - **Structure, production and signaling of leptin.** 71, 2 (2015) 233-236.
- MURAKAMI, T., IIDA, M., & SHIMA, K. - **Dexamethason regulates obese expression gene in isolated rat adipocytes.** (1995) 1260-1267.
- MURRAY, C. J. L., VOS, T., LOZANO, R., NAGHAVI, M., FLAXMAN, A. D., MICHAUD, C. (et al.) LOPEZ, A. D. - **Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990-2010: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010.** *The Lancet.* 380, 9859 (2012) 2197-2223.
- NETO, S., VARATHARAJAN, R., JOSEPH, K., & MOSER, A. - **Nasal administration of leptin dose-dependently increases dopamine and serotonin outflow in the rat nucleus accumbens.** *Journal of Neural Transmission.* 123, 11 (2016) 1247-1254.
- NG, S. W., & POPKIN, B. M. - **Time use and physical activity: A shift away from movement across the globe.** *Obesity Reviews.* 13, 8 (2012) 659-680.
- OTTAWAY, N., MAHBOD, P., RIVERO, B., NORMAN, L. A., GERTLER, A., D'ALESSIO, D. A., & PEREZ-TILVE, D. - **Diet-induced obese mice retain endogenous leptin action.** *Cell Metabolism.* 21, 6 (2015) 877-882.
- OZCAN, L., ERGIN, A. S., LU, A., CHUNG, J., SARKAR, S., NIE, D., MYERS, M. G., JR., OZCAN, U. - **Endoplasmic Reticulum Stress Plays a Central Role in Development of Leptin Resistance.** *Cell Metabolism.* 9, 1 (2009) 35-51.
- PARUTHI, J., GILL, N., & MANTZOROS, C. S. **Adipokines in the HIV/HAART-associated lipodystrophy syndrome.** *Metabolism: Clinical and Experimental.* 62, 9 (2013) 1199-1205.
- PATTERSON, C. M., VILLANUEVA, E. C., GREENWALD-YARNELL, M., RAJALA, M., GONZALEZ, I. E., SAINI, N., JONES, J., MYERS, M. G. - **Leptin action via LepR-b Tyr1077 contributes to the control of energy balance and female reproduction.** *Molecular Metabolism.* 1, 2 (2012) 61-69.
- PAZ-FILHO, G., WONG, M. L., & LICINIO, J. - **Ten years of leptin replacement therapy.** *Obesity Reviews.* 12, 501 (2011) 315-323.
- PEPPARD, P. E., YOUNG, T., BARNET, J. H., PALTA, M., HAGEN, E. W., & HLA, K. M. -

- Increased prevalence of sleep-disordered breathing in adults.** American Journal of Epidemiology. 177, 9 (2013) 1006-1014.
- QIN, Z., PANDEY, N. R., ZHOU, X., STEWART, C. A., HARI, A., HUANG, H., STEWART, A. F. R., BRUNEL, J. M., CHEN, H. H. - **Functional properties of Claramine: A novel PTPIB inhibitor and insulin-mimetic compound.** Biochemical and Biophysical Research Communications. 458, 1 (2015) 21-27.
- QUAN, W., KIM, H. K., MOON, E. Y., KIM, S. S., CHOI, C. S., KOMATSU, M., JEONG, Y. T., LEE, M.-K., KIM, K.-W., KIM, M.-S., LEE, M. S. - **Role of hypothalamic proopiomelanocortin neuron autophagy in the control of appetite and leptin response.** Endocrinology. 153, 4 (2012) 1817-1826.
- RAHMOUNI, K., FATH, M. A., SEO, S., THEDENS, D. R., BERRY, C. J., WEISS, R., NISHIMURA, D. Y., SHEFFIELD, V. C. - **Leptin resistance contributes to obesity and hypertension in mouse models of Bardet-Biedl syndrome.** Journal of Clinical Investigation. 118, 4 (2008) 1458-1467.
- RAHMOUNI, K., SIGMUND, C. D., HAYNES, W. G., & MARK, A. L. - **Hypothalamic ERK mediates the anorectic and thermogenic sympathetic effects of leptin.** Diabetes. 58, 3 (2009) 536-542.
- RAMOS-LOBO, A. M., DONATO, J. - **The role of leptin in health and disease.** Temperature. 4, 3 (2017) 258-291.
- RASO, G. M., SANTORO, A., RUSSO, R., SIMEOLI, R., PACIELLO, O., DI CARLO, C., DIANO, S., CALIGNANO, A., MELI, R. - **Palmitoylethanolamide prevents metabolic alterations and restores leptin sensitivity in ovariectomized rats.** Endocrinology. 155, 4 (2014) 1291-1301.
- RAVUSSIN, E., SMITH, S. R., MITCHELL, J. A., SHRINGARPURE, R., SHAN, K., MAIER, H., KODA, J. E., WEYER, C. - **Enhanced weight loss with pramlintide/metreleptin: An integrated neurohormonal approach to obesity pharmacotherapy.** Obesity. 17, 9 (2009) 1736-1743.
- ROPELLE, E. R., FLORES, M. B., CINTRA, D. E., ROCHA, G. Z., PAULI, J. R., MORARI, J., (et al.) CARVALHEIRA, J. B. C. - **IL-6 and IL-10 anti-inflammatory activity links exercise to hypothalamic insulin and leptin sensitivity through IKK β and ER stress inhibition.** PLoS Biology. 8, 8 (2010) 31-32.
- ROSENBAUM, M., NICOLSON, M., HIRSCH, J., HEYMSFIELD, S. B., GALLAGHER, D., CHU,

- F., LEIBEL, R. L. - **Effects of gender, body composition, and menopause on plasma concentrations of leptin.** *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* (1996) 3-6.
- ROSENBLUML, C. I., TOTAL, M., CULLYL, D., HEY, P. J., COLLUM, R., QURESHI, S., (et al.), PLOEGL, L. H. T. VAN DER. - **Functional STAT 1 and 3 signaling by the leptin receptor expression of the rat fatty leptin receptor in transfected cells.** *137, 11* (2016) 5178-5181.
- ROTH, J. D., ROLAND, B. L., COLE, R. L., TREVASKIS, J. L., WEYER, C., KODA, J. E., ANDERSON, C. M., PARKES, D. G., UNGER, R. H. - **Leptin responsiveness restored by amylin agonism in diet-induced obesity: Evidence from nonclinical and clinical studies.** *PNAS.* 105, 20 (2008) 7257-7262.
- S., B., & C.S., M. - **Leptin in humans: Lessons from translational research.** *American Journal of Clinical Nutrition.* 89, 3 (2009) 991S-997S.
- SAAD, M. F., DAMANI, S., GINGERICH, R. L., RIAD-GABRIEL, M. G., KHAN, A., BOYADJIAN, R., JINAGOUDA, S. D., EL-TAWIL, K., RUDE, R. K., KAMDAR, V. - **Sexual dimorphism in plasma leptin concentration.** *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 82, 2 (1997) 579-584.
- SCHULZ, C., PAULUS, K., JÖHREN, O., & LEHNERT, H. - **Intranasal leptin reduces appetite and induces weight loss in rats with Diet-Induced Obesity (DIO).** *Endocrinology.* 153, 1 (2012) 143-153.
- SCHULZ, C., PAULUS, K., & LEHNERT, H. - **Central nervous and metabolic effects of intranasally applied leptin.** *Endocrinology.* 145, 6 (2004) 2696-2701.
- SCOTT, M. M., LACHEY, J. L., STERNSON, S. M., LEE, C. E., ELIAS, C. F., FRIEDMAN, J. M., & ELMQUIST, J. K. - **Leptin targets in the mouse brain.** *Journal of Comparative Neurology.* 514, 5 (2009) 518-532.
- SEKHAR, R. V., JAHLOOR, F., IYER, D., GUTHIKONDA, A., PARANILAM, J., ELHAJ, F., CORAZA, I., BALASUBRAMANYAM, A. - **Leptin replacement therapy does not improve the abnormal lipid kinetics of hypoleptinemic patients with HIV-associated lipodystrophy syndrome.** *Metabolism: Clinical and Experimental.* 61, 10 (2012) 1395-1403.
- SHIMOMURA, I., HAMMER, R. E., IKEMOTO, S., BROWN, M. S., & GOLDSTEIN, J. L. - **Leptin reverses insulin resistance and diabetes mellitus in mice with**

- congenital lipodystrophy.** *Nature.* 401, 6748 (1999) 73-76.
- SIMHA, V. - **Metreleptin for metabolic disorders associated with generalized or partial lipodystrophy.** *Expert Review of Endocrinology and Metabolism.* 9, 3 (2014) 205-212.
- SPC Myalept™ (metreleptin).** EMA, 2018, 2019. [Accessed august 8, 2019]. Available on the Internet: <http://www.ema.europa.eu/ema/>
- STAHL, N., & YANCOPOULOS, G. D. - **The alphas, betas, and kinases of cytokine receptor complexes.** *Cell.* 74, 4 (1993) 587-590.
- STEINBERG, G. R., SMITH, A. C., WORMALD, S., MALENFANT, P., COLLIER, C., & DYCK, D. J. - **Endurance training partially reverses dietary-induced leptin resistance in rodent skeletal muscle.** *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism.* 286, 1 (2004) E57-E63.
- STURM, R., HATTORI, A. - **Morbid obesity rates continue to rise rapidly in the United States.** *International Journal of Obesity.* 37, 6 (2013) 889-891.
- TCHANG, B. G., SHUKLA, A. P., & ARONNE, L. J. - **Metreleptin and generalized lipodystrophy and evolving therapeutic perspectives.** *Expert Opinion on Biological Therapy.* 15, 7 (2015) 1061-1075.
- TREVASKIS, J. L., PARKES, D. G., & ROTH, J. D. - **Insights into amylin-leptin synergy.** *Trends in Endocrinology and Metabolism.* 21, 8 (2010) 473-479.
- TUPS, A., STÖHR, S., HELWIG, M., BARRETT, P., KROL, E., SCHACHTNER, J., MERCER, J. G., KLINGENSPOR, M. - **Seasonal leptin resistance is associated with impaired signalling via JAK2-STAT3 but not ERK, possibly mediated by reduced hypothalamic GRB2 protein.** *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology.* 182, 4 (2012) 553-567.
- WAYNER, M. J., ARMSTRONG, D. L., PHELIX, C. F., & OOMURA, Y. - **Orexin-A (Hypocretin-1) and leptin enhance LTP in the dentate gyrus of rats in vivo.** *Peptides.* 25, 6 (2004) 991-996.
- XIAO, C., GIACCA, A., & LEWIS, G. F. - **Sodium phenylbutyrate, a drug with known capacity to reduce endoplasmic reticulum stress, partially alleviates lipid-induced insulin resistance and β -cell dysfunction in humans.** *Diabetes.* 60, 3 (2011) 918-924.

- XU, Y., ELMQUIST, J. K., & FUKUDA, M. - **Central nervous control of energy and glucose balance: Focus on the central melanocortin system.** Annals of the New York Academy of Sciences. 1243, 1 (2011) 1-14.
- YAMADA, N., KATSUURA, G., OCHI, Y., EBIHARA, K., KUSAKABE, T., HOSODA, K., & NAKAO, K. - **Impaired CNS leptin action is implicated in depression associated with obesity.** Endocrinology. 152, 7 (2011) 2634-2643.
- YUAN, D., YI, X., ZHAO, Y., POON, C. D., BULLOCK, K. M., HANSEN, K. M., SALAMEH, T. S., FARR, S. A., BANKS, W. A., KABANOV, A. V. - **Intranasal delivery of N-terminal modified leptin-pluronic conjugate for treatment of obesity.** Journal of Controlled Release. 263 (2017) 172-184.
- ZHANG, FAMING, CHEN, Y., HEIMAN, M., & DIMARCHI, R. - **Leptin: Structure, Function and Biology.** Vitamins and Hormones. 71, 5 (2005) 345-372.
- ZHANG, FENG, WANG, S., SIGNORE, A. P., & CHEN, J. - **Neuroprotective effects of leptin against ischemic injury induced by oxygen-glucose deprivation and transient cerebral ischemia.** Stroke. 38, 8 (2007) 2329-2336.
- ZHANG, J. Y., SI, Y. L., LIAO, J., YAN, G. T., DENG, Z. H., XUE, H., WANG L.-H., ZHANG, K. - **Leptin administration alleviates ischemic brain injury in mice by reducing oxidative stress and subsequent neuronal apoptosis.** Journal of Trauma and Acute Care Surgery. 72, 4 (2012) 982-991.
- ZHANG, X., ZHANG, G., ZHANG, H., KARIN, M., BAI, H., & CAI, D. - **Hypothalamic IKK β /NF- κ B and ER Stress Link Overnutrition to Energy Imbalance and Obesity.** Cell. 135, 1 (2008) 61-73.
- ZHANG, Y., PROENCA, R., MAFFEI, M., BARONE, M., LEOPOLD, L., & FRIEDMAN, J. M. - **Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue.** Nature. 372 (1994) 425-432.
- ZHOU, C. J., HUANG, S., LIU, J. Q., QIU, S. Q., XIE, F. Y., SONG, H. P., LI, Y. S., HOU, S. Z., LAI, X. P. **Sweet tea leaves extract improves leptin resistance in diet-induced obese rats.** Journal of Ethnopharmacology. 145, 1 (2013) 386-392.