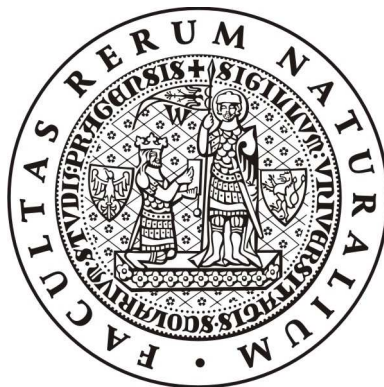


UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Katedra fyziologie živočichů



BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

NEUROPEPTID Y A REGULACE PŘÍJMU POTRAVY
NEUROPEPTIDE Y AND FOOD INTAKE REGULATION

Barbora Váchová

Školitel: RNDr. Jara Nedvídková, CSc.

Praha 2010

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci „Neuropeptidová regulace říjmupotravy“ vypracovala samostatně použitím uvedené literatury a základních konzultací se svou školitelkou.

V Praze dne

.....

Děkuji svéškolitelce RNDr. Janě Nedvíkové, CSc. za cenné rady, připomínky a trpělivost. Zároveň bych chtěl poděkovat i panu Doc. RNDr. Stanislavu Vybíralovi, CSc. za čas, který mi vždy ochotně věnoval.

ABSTRAKT

Neuropeptid Y (NPY) je složena z 36 aminokyselin a je součástí NPY rodiny. Jeho biosyntéza probíhá v hypothalamu a roku 2007 byla popsána jeho expresivní funkce v tukové tkáni. NPY je všudypřítomný hormon s centrální i periferní aktivitou, která cílí na udržení homeostázy. Je také jedním z nejvýznamnějšíchorexigenních hormonů. Prosvětlí činnost regulující příjem potravy využívá receptory spájené s G-proteiny typu Y1, Y2 a Y5; vzhledem k mnoha závažným vedlejším účinkům současných léků na snížení motnosti jsou ligandy těchto receptorů (antagonisté Y1 a Y5R, agonisté Y2R) nyní uvažovány jako nové léčebné látky proti obezitě.

Tato práce zaměřena na obecnou charakteristiku NPY jakoorexigenního faktoru a možnost využití látek odvozených z proléčbu obezity.

Klíčová slova: Neuropeptid Y (NPY), hypothalamus, příjem potravy, obezita, receptory pro NPY, léky proti obezitě

ABSTRACT

Neuropeptide Y (NPY) is a 36-amino acid member of the NPY family. Its biosynthesis occurs in the hypothalamus and its expression also in adipose tissue was described in 2007. NPY is a ubiquitous hormone with central and peripheral effects which lead to the maintenance of homeostasis; NPY is also one of the most significantorexigenichormones. NPY utilizes G-protein coupled receptors Y1, Y2 and Y5 for its food intake regulation; owing to serious side effects of currently used anti-obesity drugs, the ligands of these receptors (Y1R and Y5R antagonists and Y2R agonists) are considered as targeting molecules for a new therapeutic strategy for obesity treatment. This work is focused on the characteristic of NPY as anorexigenic agent and the possibility of using NPY-based drugs for obesity treatment.

Keywords: Neuropeptide Y (NPY), hypothalamus, food intake, obesity, NPY receptors, anti-obesity drugs

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AAV	adeno-associatedvirus	
ACTH	adrenocorticotropichormone	adrenokortikot ropníhormon
AEA	ananamide	ananamid
AK		aminokyselina
ARC	nucleusarcuatus	
BMI	bodymassindex	index tělesnéhmotnosti
CNS		centrální nervová soustava
CORT	corticosterone	kortikosteron
cRNA	complementaryRNA	komplementárníRNA
DIO	diet-inducedobesity	obezita vyvolaná stravou v ovacímí návyky
DMN	dorsomedialnucleus	dorzomediální jádro
DR	diet-resistant	
<i>fa</i> gen	fattygene	
GABA	γ -aminobutyricacid	kyselina γ -aminomáselná
GHS-R	growthhormonesecretagogue receptor	receptor pro sekreci růstových hormonů
HC	ahigh-carbohydratediet	strava bohatá na sacharidy
HF	ahigh-fatdiet	strava bohatá na tuky
ICV	intracerebroventricular	intracerebroventrikulární
IHC	anintermediate-carbohydrate diet	strava se středním obsahem sacharidů
IHF	anintramediate-fatdiet	strava se středním obsahem tuků
LF	low-fatdiet	strava s nízkým obsahem tuků
LH	lateralhypothalamus	laterálníhypothalamus
LPL	lipoproteinlipase	lipoproteinová lipáza
MC4-R	melanocortin-4receptor	melanokortinový receptor 4
MSH	melanocytes-stimulating hormone	melanocytostimulační hormon
NA	noradrenaline	noradrenalin
NGF	nervegrowthfactor	nervový růstový faktor

NPY	neuropeptideY(neuropeptide tyrosine)	neuropeptid Y(neuropeptid tyrozin)
nt	nukleotide	nukleotid
obgen	obesegene	
PAM	peptidyl-aminotransferase	peptidyl-aminotransferáza
PP	pancreaticpolypeptide	pankreatickýpolypeptid
PY	pancreaticpeptideY	pankreatickýpeptidY
PYY	peptideYY	peptidYY
PYY(3-36)	peptideYY(3-36)	peptidYY(3-36)
PYY4	peptideYY4	peptidYY4
PVN	paraventricularnucleus	paraventrikulární jádro
rhNPY	recombinanthumanNPY	lidskýrekombinant níNPY
TNF- α	tumornecrosisfactor α	faktorzpůsobujícínekrózu nádorů α
UTR	untranslatedregion	nepřekládanáoblast
Y1R	Y1receptor	Y1receptor
Y2R	Y2receptor	Y2receptor
Y3R	Y3receptor	Y3receptor
Y4R	Y4receptor	Y4receptor
Y5R	Y5receptor	Y5receptor
VMH	ventromedialhypothalamus	ventromediálníhypothalamus
VMN	ventromedialnucleus	ventromediálníjádro
7TM	7transmembranereceptor	7-transmembránový receptor(serpetynový)

OBSAH

Abstrakt.....	1
Seznampoužitýchzkratek.....	2
Obsah.....	4
1.Úvod.....	6
2.Neuropeptidy.....	8
2.1.Objevneuropeptidů.....	8
2.2.Biosyntézaaevolúciónineuropeptidů.....	8
2.3.Rodinygenůneuropeptidy.....	10
2.4.Funkceneuropeptidů.....	11
3.NeuropeptidY.....	12
3.1.NPYrodina.....	12
3.1.1.ReceptoryprorodinuNPY.....	12
3.2.StrukturaNPY.....	14
3.3.GenováexpresenPY.....	15
3.4.MetabolismusNPY.....	16
3.4.1.BiosyntézaNPY.....	16
3.4.2.DegradaceNPY.....	16
3.5.NPYjakoregulátorpříjmu potravy.....	17
3.5.1.OrexigenníúčinekNPY.....	18
3.5.2.VztahexpresenPYk příjmu potravyatělesnéhmotnosti.....	18
3.5.3.LokalizacemísthypothalamuzúčástněnýchvůčinkuNPYnapříjmu potravy.....	19
3.5.4.NPYamotivacek příjmu potravy.....	19
3.5.5.NPYatypnutrientův potravě.....	19
3.5.6.OrexigenníreceptoryproNPY.....	19
3.5.7.AnorexigenníY-receptory.....	20
3.6.FaktoryovlivňujícíendogenníNPY.....	20

3.6.1.Hladov ění.....	20
3.6.2.Cirkadiánníovlivn ění.....	20
3.6.3.Složenístravy.....	21
3.6.4.Glukóza.....	22
3.6.5.Inzulin.....	22
3.6.6.Leptin.....	22
3.6.7.Glukokortikoidy.....	22
3.6.8.Kanabinoidy.....	23
3.6.9.Opioidy.....	24
3.6.10.Melanokortin.....	24
3.6.11.Ghrelín.....	25
4.NPYaobezita.....	26
4.1.NPYvgenetickýchmodelechobezity.....	26
4.1.1.Zuckerrat.....	26
4.1.2.ob/obmyš.....	27
4.2.NPYvobezit ěvyvolanéstravovacímínávyky(diet-inducedobesity =DIO).....	28
5.NPYexprimovanýtukovětkání.....	30
6.Terapeutickývýznamligand ůproNPYreceptory.....	32
6.1.AntagonistéY1receptoru.....	32
6.2.AntagonistéY5receptoru.....	32
6.3.AgonistéY2receptoru.....	33
6.4.Antiobězníú ěinekY2Ragonist ůvkombinacisY5Rantagonisty.....	33
7.Diskuzeazáv ěr.....	35
8.Seznampoužitěliteratury.....	37

1. ÚVOD

Obezita je závažným celosvětovým problémem zasahujícím nejen v vyspělých státech, ale i v rozvojových zemích; poslední dobou bývá nazývána jako epidemie 3. tisíciletí. V roce 1995 se na celém světě odhadovalo 200 milionů lidí trpících obezitou, v roce 2000 toto číslo stoupl na 300 milionů. V západní Evropě trpí obezitou 10–25% dospělých, v USA 20–25%, v východní Evropě je obezita 40% žen. Česká republika zaujímá se svými 21% obézními muži a 31% obézními ženami průměrné místo mezi státy Evropy. Nad váhou trpí 47% mužů a 41% žen (<http://www.obezita.cz/obezita/v-cr-a-ve-svete/>).

Obezita, pomíneme-li společenské a psychologické aspekty, hlavně zvyšuje riziko vzniku chronických onemocnění, jakými jsou diabetes mellitus 2. typu, ischemická choroba srdce, hypertenze, osteoartróza, podporuje vznik rakoviny (Neary, Smalley a Bloom 2003, Meister 2007, podle Kamiji a Inui 2007). S obezitou souvisí vyšší riziko úmrtí; mortalita roste již od BMI (body mass index) = 26, které je klasifikováno jako nad váha, tzv. obezita 3. stupně (BMI > 40) je spojena s 3–4x vyšším rizikem úmrtí (<http://obesitynews.cz/?pg=uvod&id=31>).

V většině případů je úspěšným řešením problému týkajícího se obezity změna životního stylu – změna stravovacích návyků a zvýšení pohybové aktivity. Nicméně málo výrazné účinky tohoto přístupu vedly k vývoji efektivnějších terapií, mezi které patří operace gastrointestinálního traktu a farmakologická léčba.

Léky nasnížení hmotnosti působí dvěma hlavními mechanismy: 1) na periférii, kde ovlivňují metabolický a kontrolní systém a redukcí absorpce jídla; nebo 2) centrálně, kde snižují příjem potravy a zvyšují energetický výdej (Cooke a Bloom 2006, podle Kamiji a Inui 2007).

Mezi současně dostupné léky proti obezitě patří: sympatomimetická látka nábázi amfetaminů, inhibitory lipáz (orlistat), inhibitory zpětného vychytávání serotoninu a noradrenalinu, sibutramin a léky protiepilepsii (Cooke a Bloom 2006, Lieta al. 2005, podle Kamiji a Inui 2007). Všechny tyto léky ale mají rozmanité vedlejší účinky: léky nábázi amfetaminů jsou příčinou primární plicní hypertenze a valvulopatie (Ioannides-Demos et al. 2006, podle Kamiji a Inui 2007), orlistat způsobuje inkontinenci, diareu a špatné vstřebávání vitamínů rozpustných v tucích (Cooke a Bloom 2006, podle Kamiji a Inui 2007), sibutramin zvyšuje frekvenci srdeční tepu a krevní tlak (Lieta al. 2005, podle Kamiji a Inui 2007). Jediným lékem určeným k dlouhodobé léčbě obezity jsou orlistata

sibutramin, navíc bezpečenost a účinek těchto léků nebyl stanoven u dětí, adolescentů a starších osob (Ioannides-Demos et al. 2006, podle Kamiji a Inui 2007).

Neuronální receptory regulující příjem potravy jsou součástí časnosti uvažovány jako nové cílové struktury pro léky snižující hmotnost. Byly tak studovány receptory pro melanokortin, kanabinoidy, ghrelin, β 3-adrenergické receptory a receptory pro NPY (Kopelman 2005, Cooke a Bloom 2006, podle Kamiji a Inui 2007). Antagonista kanabinoidního receptoru CB1 rimonabant byl schválen pro léčbu obezity a některé další ligandy z uvedených receptorů jsou ve fázi klinických studií (Kamiji a Inui 2007).

Tato práce je zaměřena na obecnou charakteristiku neuropeptidu Y, jeho vliv na regulaci příjmu potravy a možné využití ligandů některých typů Y-receptorů jako léčebných látek proti obezitě.

2. NEUROPEPTIDY

Definice označují neuropeptidy jako peptidy nebo peptidové fragmenty, které jsou syntetizovány z inaktivního prekurzoru (prepro-peptidu) v neuronu a působí buď přímo nebo nepřímo modulují synaptickou aktivitu přes receptory spojené s G-proteiny. Neuropeptidy mohou také působit jako primární neurotransmitery a hormony (Burbach 2010).

2.1. OBJEV NEUROPEPTIDŮ

Neuropeptidy byly poprvé představeny v 70. letech 20. století Davidem de Wiedem jako fragmenty peptidických hormonů, chemické signály produkované neurony pro regulaci jiných nervových buněk (Burbach 2010).

David de Wied použil termín „neuropeptidy“ v roce 1969 ve své práci: „Effects of Peptide Hormones on Behavior“ (Burbach 2010). Při zkoumání stresu a hormonů hypofýzy označil mozek jako orgán senzitivní k peptidickým hormonům a jejich derivátům. Adrenokortikotropin (ACTH), melanocyty stimulující hormon (MSH) a vazopresin označil jako hormony, které působí v mozku a které se mohou podílet na reakci organismu v procesu učení a paměti (Bohus and Dewied 1966, Dewied 1971, podle Burbach 2010). Zjistil, že rozdílné aktivity, endokrinní i centrální, souvisí se strukturou těchto hormonů. Při fragmentaci ACTH a MSH ztratily svou endokrinní aktivitu, ale jejich účinek na centrální nervový systém zůstal zachován. Peptidy centrální aktivity označil „neurogenními peptidy“, zkráceně pak „neuropeptidy“ (Bohus and Dewied 1966, podle Burbach 2010).

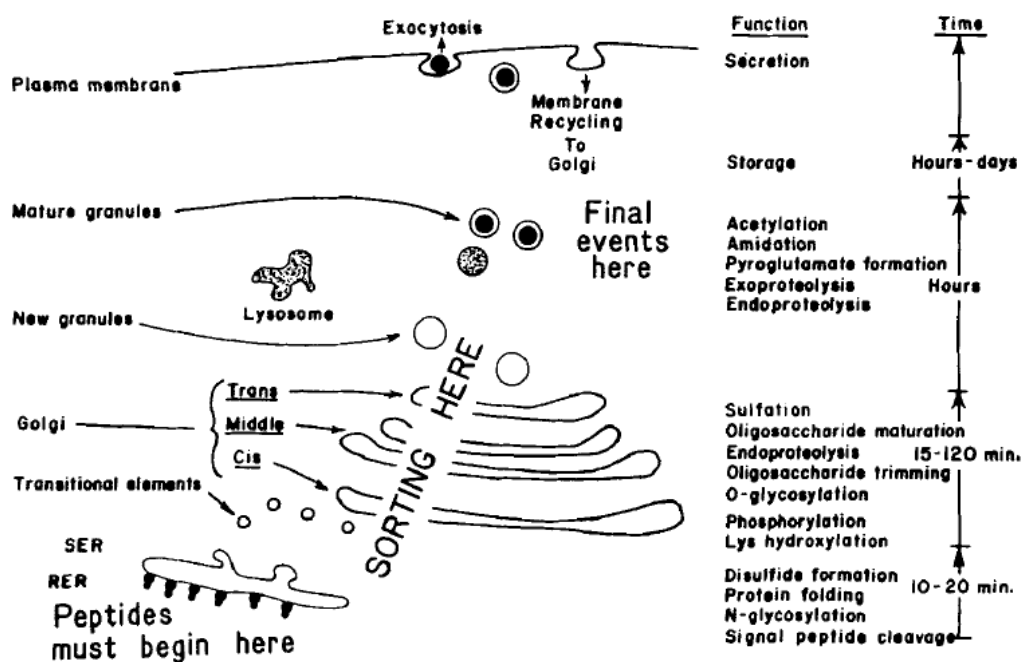
2.2. BIOSYNTÉZA A UVOLŇOVÁNÍ NEUROPEPTIDŮ

Neuropeptidy jsou odvozeny z velkého prekurzoru (prepro-peptidu), který podléhá posttranslačním úpravám a modifikacím. Jeden prekurzor může dát vznik jednomu neuropeptidu, nebo několika odlišným neuropeptidům, více kopiím stejného neuropeptidu nebo kombinací všech zde zmíněného (Brownstein, Russell and Gainer 1980, podle Burbach 2010).

Genová exprese biosyntézy neuropeptidů je primárně spojena s nervovými buňkami. Existují ale i biologicky aktivní látky, strukturně i funkčně charakterizované jako neuropeptidy, které se syntetizují v periferních orgánech. Syntéza klasických neuropeptidů je regulována sekretorickou dráhou (viz obrázek 1), velký inaktivní prekurzor je syntetizován v endoplazmatickém retikulu a transportováno

Golgihoaparátukzabalení.Vá čekjepomocímotorovýchprotein ůkinezin ůtransportován knervovémuzakon čení,kdejep řipravenkexocytóze.Prekurzoryprotein ůjsouusklad ůnovány vtakzvaných,,largedensecorevesicles“(sekre čnígranula)spole čněskonvertázami,kerévyst řihnou bioaktivnípeptid.Oprotitakzvaným,,smallclearvesicles“vá čkysneuropeptidynejsoulkalizovány vsynaptickézón ě,alejsoudifúzn ěroztroušenykolemnerвовéhozakovon čení.Zatímcová čky sneurotransmiteryjsouuvol ůnoványlokálnímvezstupemkoncentracekalcia,uvoln ění,,densecore vesicles“jezávislénánárustukoncentracevápníku podélceléhonervovéhozakovon čení,k čemuž docházíažpovysokýmstupnistimulu(Brownsteinetal.1980, podleBurbach2010).

Pouvoln ěnívá čkuavylitíjehoobsahubývajíneuropeptidynarozd ělodmalýchhormon ů,keréjsou zpětněvyčytávány,degradoványproteázami.Musíbýtudí žsyntetizoványvt ěleneuronu *denovo* a opěťtransportoványpodélaxonuknervovémuzakovon čení.Kdegradacidocházípomocír ůžných specializovanýchneuropeptidáz(Brownsteinetal.1980, podleBurbach2010).



Obrázek 1: Biosyntéza, „processing“, uskladnění a výlev váčků s neuropeptidy (Mains et al. 1987).

Proendoproteolytickýsest řihjsouozeznávány řihlavnístrukturnícharakteristiky: *signálnípeptid* (thesignalpeptide), *oblastbazickýchaminokyselin* (thebasicmotifs)a *amidovanýC-konec* *prekurzoru*(C-terminalamidation).

•Signálnípeptid

N-koncová část dlouhá 20–25 aminokyselin je požadována pro postupnou syntetizovaného hogenového produktu lumen endoplazmatického retikula a je sestřihána při průchodu membránou endoplazmatického retikula–Golgi z vznikajícího pro-peptidu.

•Oblast bazických aminokyselin

Páry bazických aminokyselin lysinu a argininu nebo pouze samotného argininu, jsou využívány jako rozpoznávací sekvence pro pro-hormonální konvertázy, které dávají vznik generaci peptidů.

•Amidovaný C-konec prekurzoru

Produkty vzniklé štěpením pro-hormonálních konvertáz mohou být dále modifikovány pomocí peptidyl-aminotransferázy (PAM). Tento enzym využívá C-koncový glycin jako donor amidu pro amidaci předchozí aminokyseliny; vznikají tak produkty s amidovaným C-koncem, který je většinou esenciální pro biologickou funkci daného peptidu. Těto strukturní charakteristiky byly využity například pro izolaci neuropeptidu Y a peptidu YY, jejichž název je právě odvozen od C-koncové amidované aminokyseliny (Y=tyrozin) (Tateamoto and Mutt 1980, podle Burbach 2010).

2.3. RODINY GENŮ PRO NEUROPEPTIDY

Neuropeptidům užeme rozdílné rodiny podle podobnosti struktur, pro které existují stejné či podobné receptory (Burbach 2010) (viz tabulka 1).

Neuropeptide gene family	Precursor	Active peptides
Opioid gene family	Prepro-enkephalin	Enkephalin
	Pro-opiomelanocortin	Melanocyte-stimulating hormone, endorphin
Vasopressin/oxytocin gene family	Prepro-vasopressin-neurophysin II	Vasopressin, Neurophysin II
	Prepro-oxytocin-neurophysin I	Oxytocin, Neurophysin I
CCK/gastrin gene family	Prepro-gastrin	Gastrin
	Prepro-cholecystokinin	Cholecystokinin
Somatostatin gene family	Prepro-somatostatin	Somatostatin
Vasopressin/oxytocin gene family	Prepro-vasopressin-neurophysin II	Vasopressin, Neurophysin II
F-and Y-amide gene family (NPY family)	Prepro-neuropeptide Y	Neuropeptide Y
	Prepro-pancreatic polypeptide	Pancreatic polypeptide
	Prepro-peptide YY	Peptide YY
Calcitonin gene family	Prepro-calcitonin	Calcitonin
Natriuretic factor gene family	Prepro-atrial natriuretic factor	Atrial natriuretic factor
Bombesin-like peptide gene family	Prepro-gastrin releasing peptide	Neuromedin C

Neuropeptide gene family	Precursor	Active peptides
Endothelin gene family	Prepro-endothelin1	Endothelin1
Glucagon/Sekretin gene family	Prepro-glucagon	Glucagon
	Prepro-secretin	Secretin
	Prepro-Vasoactive intestinal peptide	Vasoactive intestinal peptide
CRH-related gene family	Prepro-corticotropin-releasing hormone	Corticotropin-releasing hormone
Kinin and Tensing gene family	Prepro-tachykinin A	Substance P, Neurokinin A
Neuromedins	Prepro-neuromedin S	Neuromedin S
Tensins and Kinins	Angiotensinogen preprotein	Angiotensin I, II
Granins	Chromogranin A precursor	Chromogranin A
Motilin family	Prepro-motilin	Motilin
	Prepro-ghrelin	Ghrelin, Obestatin
Galanin family	Prepro-galanin	Galanin
GnRH family	Prepro-gonadotropin-releasing hormone 1	Gonadoliberin
Neuropeptide B/W family	Prepro-neuropeptide B	Neuropeptide B
Neurexophilins	Neurexophilin-1 precursor	Neurexophilin-1
Insulin-like family	Prepro-insulin	Insulin
No-family neuropeptides	Agouti-related protein precursor	Agouti-related protein
Cerebellins	Cerebellin-1 precursor	Cerebellin-1
Adipose neuropeptides	Prepro-leptin	Leptin
	Adiponectin precursor	Adiponectin
	Resistin precursor	Resistin

Tabulka 1: Rodiny genů pro neuropeptidy (Burbach 2010).

2.4. FUNKCE NEUROPEPTIDŮ

Neuropeptidy mají pleiotropní efekt – ovlivňují úžňt káň řa orgány, a na úrovní genetické, biochemické, buněčné; mají vliv na chování celého organismu (Burbach 2010).

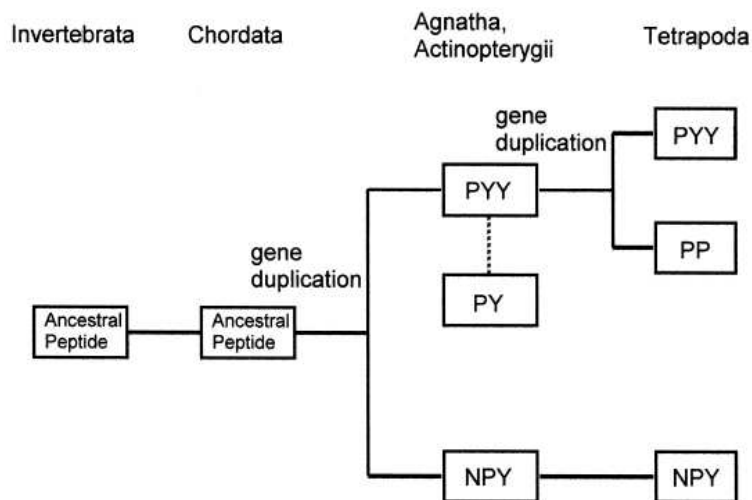
Oproti neurotransmiterům, jejichž odpověď je rychlá a účinek krátkodobý, neuropeptidy mají relativně pomalou odpověď, ale zato dlouhotrvající účinek. Je to dáno hlavně rozdílnou lokalizací váček u šhormony a váček u neuropeptidů. K pomalejší odpovědi dále přispívá i fakt, že neuropeptidy převážně působí na receptory spřažené s G-proteiny. Tyto receptory spouští intracelulární signální kaskádu enzymových molekul, která vede k buněčné odpovědi. Doba, která uplyně od zahájení signalizace projev ubuňky, je podstatně delší (trvá sekundy i dny), než doba, která uplyně e při římpůsobení neurotransmiterů na iontový kanál (milisekundy) (Brownstein et al. 1980, podle Burbach 2010).

3. NEUROPEPTID Y

Neuropeptid Y (neuropeptid tyrozin; NPY, PYY4) byl poprvé popsán Kazuhiko Tatemotem roku 1982 (Tatemoto et al. 1982). Je to všude přítomný hormon, jak centrální, tak periferní účinky, které obecně vedou k udržování homeostázy; způsobuje vazokonstrikci, ovlivňuje motilitu gastrointestinálního traktu, reguluje stravovací návyky, reprodukční a endokrinní systém a působí jako modulator paměti (Ludwig, Lucius a Mentlein 1995).

3.1. NPY RODINA

NPY spadá společně s peptidem YY (PYY), pankreatickým polypeptidem (PP) a pankreatickým peptidem Y-ryb (PY) do NPY rodiny, jejíž členové vznikly mechanismem genové duplikace (viz obrázek 2) (Larhammar et al. 2001).



Obrázek 2: Schématický diagram evoluce NPY/PYY/PY/PP. Jejich vzájemné vztahy jsou postaveny na základě známé peptidové sekvence a cDNA (Hoyle 1999).

3.1.1. RECEPTORY PRO RODINU NPY

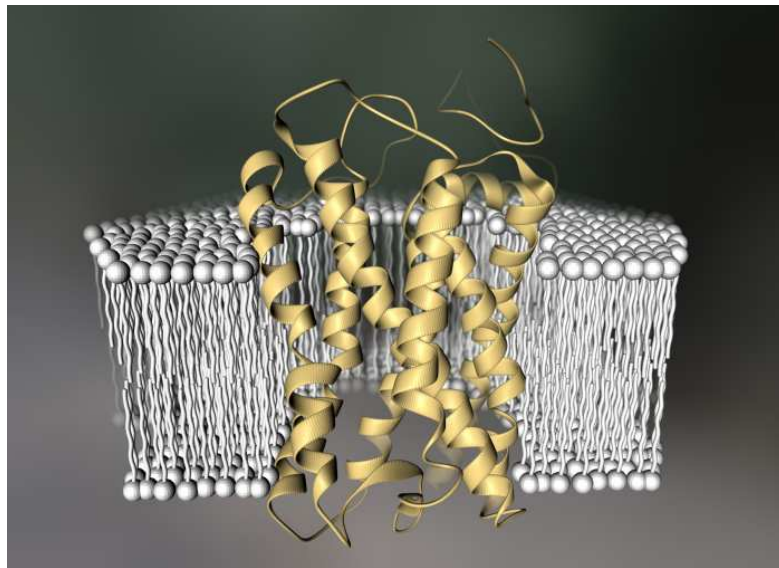
Všichni členové NPY rodiny využívají receptory spářené s G-proteiny, serpentinové, sedmi transmembránovými doménami (7TM) (viz obrázek 3); vyskytují se jak v CNS, tak v periférii. Charakterizovány byly receptory Y1-Y5 a Y6 (viz tabulka 2); Y3 a Y4 ještě nebyly naklonovány. Celý funkční receptor byl prozatím nalezen pouze u myši a králíka; u opičí lidský genom obsahuje

jednopárovou delecí v oblasti, která kóduje šestý transmembránový úsek receptoru, dochází k expresi zkrácené a nefunkční verze 6 receptoru (Larhamm et al. 2001).

Typ receptoru	Agonisté
Y1	NPY, PYY, PP
Y2	NPY, PYY
Y3	NPY
Y4	NPY, PYY, PP
Y5	NPY, PYY
Y6	NPY, PYY, PP

Tabulka 2: Typy receptorů a jejich agonisté.

Mezi konkrétními podtypy receptorů v různých organismech existuje vysoká homologie, mezi jednotlivými subtypy receptorů je však sekvencí homologie velmi nízká; rodina Y-receptorů z tohoto hlediska patří mezi nejvíce variabilní rodiny receptorů spářovaných s G-proteiny (Larhamm et al. 2001).

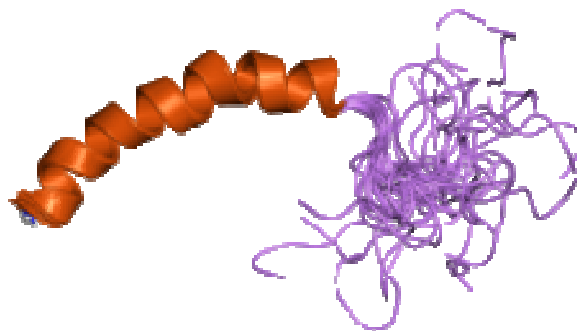


Obrázek 3: 7TM receptor. Převzato z http://www.scientificimages.co.uk/Proteins/GPCR_membrane.jpg

3.2. STRUKTURA NPY

NPY je složen z 36 aminokyselin a má amidovaný C-konec. Jeho primární sekvence je: Tyr-Pro-Ser-Lys-Pro-Asp-Asn-Pro-Gly-Glu-Asp-Ala-Pro-Ala-Glu-Asp-Leu-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (Tatemoto 1982); sekundární struktura je zobrazena na obrázku 4.

V prostoru zaujímá NPY, tzv. PP-fold. Tato vlásenka vitá struktura je charakterizována *polyprolinovým helixem* (oblast mezi 1.-8. aminokyselinou), který leží paralelně k *amifilnímu α -helixu* (oblast mezi 15.-30. aminokyselinou); helixy mezi sebou svírají úhel velikosti 152° a jsou vzájemně spojeny *β -vlásenkou typu I* (oblast mezi 9.-14. aminokyselinou). Struktura nabývá správné nativní konformace pomocí hydrofobních interakcí mezi postranními řetězci α -helixu a proliny nacházejícími se na N-terminu (Fuhlendorff et al. 1990).



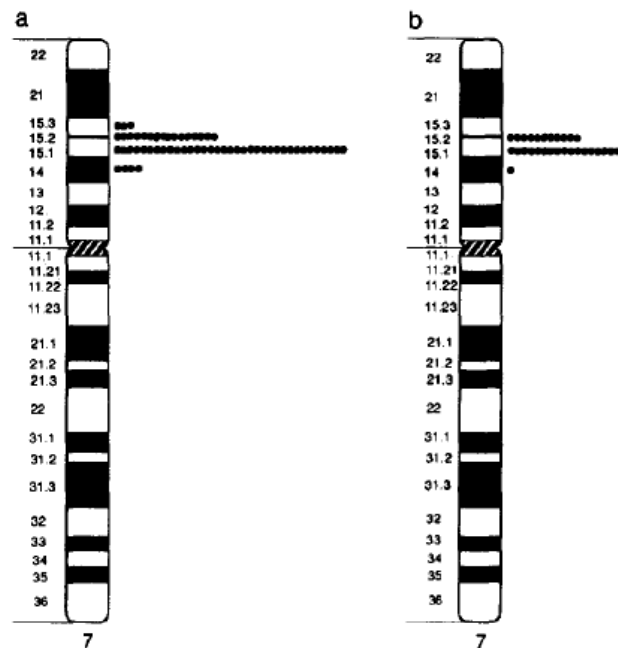
Orázek 4: Sekundární struktura lidského NPY (PDB 1RON). Převzato z <http://www.ebi.ac.uk/pdbe-srv/view/entry/1ron/summary> Autoři: Monks, Karagianis, Howlett, Norton. Metoda: solution NMR

3.3. GENOVÁ EXPRESE NPY

Gen lidský NPY se nachází na chromozomu 7 (resp. ekvivalentu chromozomu 7p15.1 (viz obrázek 5)) pouze v jedné kopii (Baker et al. 1995) a skládá se ze 4 exonů a 3 intronů. *Exon 1* kóduje 5'-nepřekládanou oblast (5'-UTR = untranslated region) a iniciační kodon pro methionin, *exon 2* zbytek signálního peptidu a většinu maturovaného NPY, *exon 3* dává vznik „Gly-Lys-Arg processing site“ a následujícím 23 aminokyselinám, *exon 4* kóduje posledních 7 aminokyselin a 3'-nepřekládanou oblast (3'-UTR) (Larhammar, Ericsson and Persson 1987).

Oblast startu transkripce se nachází 30 nt, upstream „od A-T bohaté oblasti („TATA-like element“, ATAAA), která slouží jako promotor. Mezi nepřekládanými koncovými oblastmi existuje značná sekvenční homologie mezi člověkem a potkanem (5' UTR 80% a 3' UTR 81%), která je určité funkční vlastnosti těchto úseků, například v regulaci genové exprese (Larhammar et al. 1987).

Exprese genu pro NPY je ovlivněna mimo jiné i nervovými růstovými faktory (nerve growth factors = NGF), které obecně působí jako transkripční aktivátory (Mintz et al. 1994).

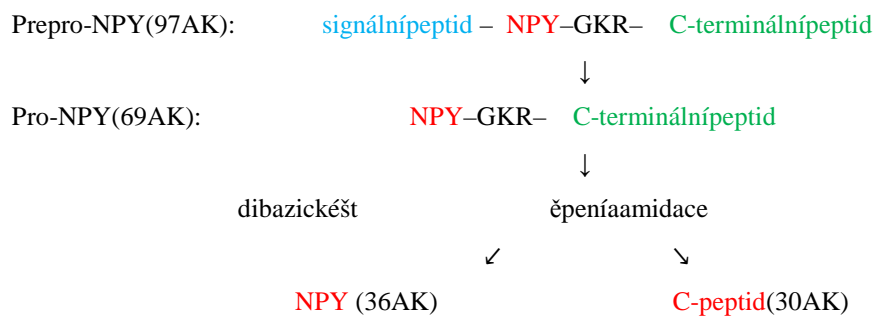


Obrázek 5: Idiogram chromozomu 7 ukazuje distribuci fluorescenčních signálů, které následovaly hybridizací lidského NPY genu do dvou odlišných mužských (a,b) metafázických chromozomů (Baker et al. 1995).

3.4. METABOLISMUS NPY

3.4.1. BIOSYNTÉZA NPY

NPY je syntetizován jako dlouhý inaktivní prekurzor (97 aminokyselin = 10,839 Da), který podléhá proteolytickému štěpení a dává vznik maturovanému NPY (36 aminokyselin) (viz obrázek 6). Prepro-neuropeptid Y se skládá ze signálního peptidu, maturovaného NPY, „Gly-Lys-Arg processing site“ a karboxy-terminálního peptidu (Minthetal. 1984). První proteolytickému štěpení se uvolní *signální peptid* (28 aminokyselin) a *pro-neuropeptid Y* (NPY-GKR-C-terminální peptid), druhé štěpení pak dává vznik *NPY* amidovanému a 36 tyrozinu a *C-koncovému peptidu* (30 aminokyselin) (Larhammar et al. 1987).



Obrázek 6: Schéma biosyntézy NPY.

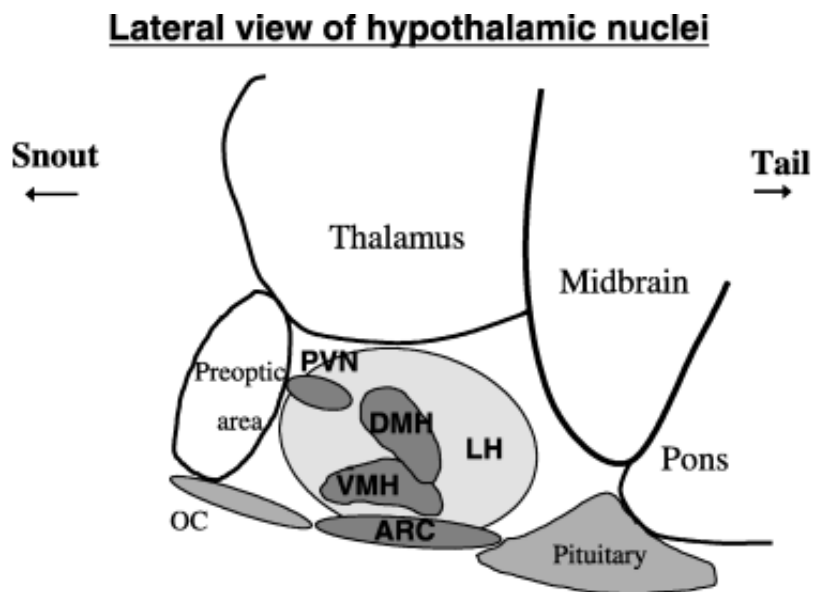
Maturovaný NPY je uskladněn v sekretorických granulích společně s dalšími neuropeptidy a neurotransmitery, zejména s noradrenalinem, dále pak s acetylcholinem, vazoaktivním intestinálním peptidem, hormonem uvolňujícím srdeční výtok, somatostatinem a cholecystokininem (Minthand Dixon 1990).

3.4.2. DEGRADACE NPY

Jakmile je NPY uvolněn z vázání na receptor, musí být inaktivován, aby se zamezilo trvalému stimulaci. V mozku se tak děje pomocí neuropeptidáz. Například dipeptidylpeptidáza IV u endoteliálních buněk je schopna degradovat NPY na periférii; amidopeptidáza Pdokáže odstranit N-koncový tyrozin z peptidového řetězce. Inaktivace NPY je dále schopna i endopeptidáza (Ludwig et al. 1995).

3.5. NPY JAKO REGULÁTOR PŘÍJMU POTRAVY

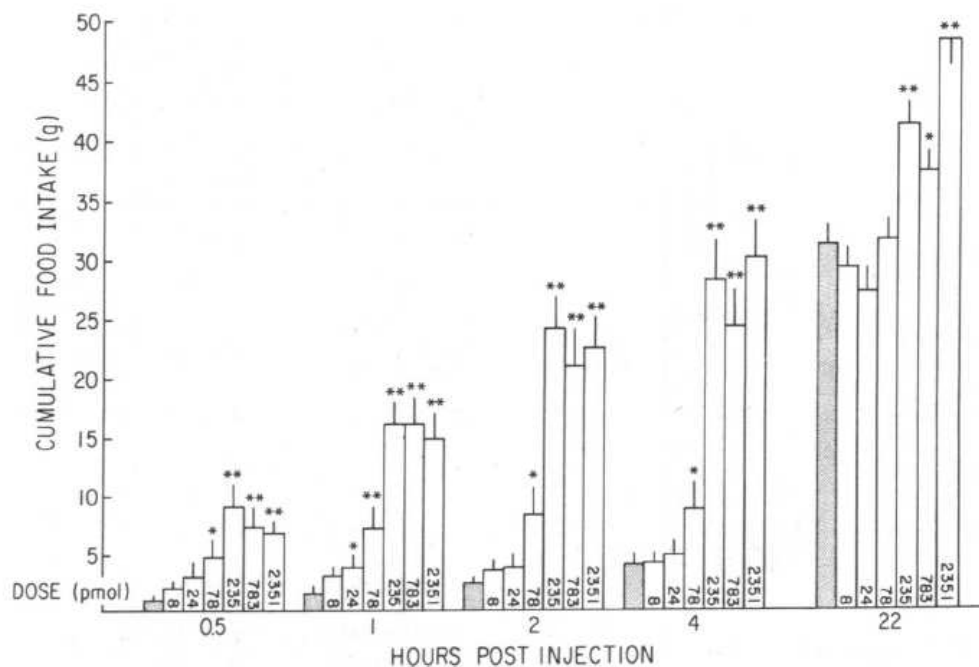
Neuropeptid Y je jedním z nejvýznamnějšíchorexigenníchpeptidůnalezenýchvmozku.Stimuluje příjempotravyspreferencínapříjemсахaridů(Welchetal.1994);zkracujeintervalymezi jednotlivýmichody,stimulujechuťkjídla,prodlužujenástupocitusytosti,cožnutřorganismus neustálešnavyšovatporcejídla(Morley,HernandezandFlood1987).Tytoefektyjsou uskutečňoványinterakcísY1aY5receptory(Henryetal.2005)acelýsystémjezvětšiny lokalizovánvhypothalamu(vizobrázek7).Sestáváseze„nucleusarcuatus“(ARC),kdejeNPY syntetizován,zparaventrikulárního(PVN),dorzomedianího(DMN)aventromediálního(VMN) jádra,kdejeNPYaktivní(Jolicoeural.1995).Tatoaktivitajeregulovánazadnímmozkema limbickýmsystémem,ježávislánaenergetickédostupnosti(hladcelýsystémupregulujeaponasycení sekoncepceNPYvracízpřibližnědozákladníchhodnot)(Becketal.1990)anaskláděpotravynaboh obsahusacharidůatuků)(Giraudoeetal.1994).



Obrázek 7: Anatomie hypothalamu - laterální řez (Neary, Goldstone and Bloom 2004).

3.5.1. OREXIGENNÍ ÚČINEK NPY

Orexigenní účinek neuropeptidu Y byl pozorován po jeho podání do PVN nasyceného potkana. Potkan během 4 hodin konzumoval stejné množství potravy, které by za normálních podmínek snědl za 24 hodin (viz obrázek 8). Tato skutečnost byla navíc pozorována zabilé hodně, kdy příjem potravy potkanů byl výrazně nižší než v noci. Injekcí NPY do PVN bylo také zjištěno, že příjem potravy po PVN injekci čtyřech neurotransmiterů: noradrenalinu (NA), opiátů, γ -aminomáselné kyseliny (GABA) a acetylcholinu, z nichž působení NA vykazovalo nejvyšší odpověď. Nyní je zřejmá síla regulátoru říjmupotravy považován NPY, u kterého bylo zjištěno, že 500krát vyšší odpověď než u NA (Stanley and Leibowitz 1985).



Obrázek 8: Narůstající příjem potravy u potkana po 0,5, 1, 2, 4 a 22 hodinách a po PVN injekcích NPY (8, 24, 78, 235, 783 a 2351 pmol/0,3 μ l), kontroly jsou šedě šrafovány (Stanley and Leibowitz 1985).

3.5.2. VZTAH EXPRESE NPY K PŘÍJMU POTRAVY A TĚLESNÉ HMOTNOSTI

AAV (Adenoasociovaný virus) zprostředkovaně exprese anti-sense NPY cRNA vede u potkana ke snížení exprese NPY v průměru o 50%. Tato redukce výlevu NPY způsobila snížení denního příjmu potravy potkanů v průměru o 10% a dlouhodobě vedla k poklesu jeho hmotnosti. Výsledky této studie ukázaly, že NPY je důležitý pro regulaci denního příjmu potravy nejenom, jak by se očekávalo, ale i do této doby, v odpovědi na hladovění (Gardiner et al. 2005).

3.5.3. LOKALIZACE MÍST HYPOTHALAMU ZÚČASTNĚNÝCH V ÚČINKU NPY NA PŘÍJEM POTRAVY

Oblasti hypothalamu, které se účastní účinku NPY na příjem potravy, byly určovány pomocí mikrojinkcí NPY v dávkách (0,156-20 µg) do jednotlivých jader hypothalamu. Ačkoliv injikovaný NPY vykazovalorexigenní účinky ve všech pozorovaných oblastech, nejvíce senzitivní byla oblast PVN a VMN (Jolicoe et al. 1995).

3.5.4. NPY A MOTIVACE K PŘÍJMU POTRAVY

NPY podávaný intracerebroventrikulárně (ICV) také stimuluje motivaci k jídlu. Potkan pod vlivem NPY byl ochoten vynaložit větší pracovní sílu získání mléka, při jeho pití toleroval elektrické šoky do jazyka a ignoroval jeho poupravenou chuť daleko více než kontrolní objekt (Flood and Morley 1991).

3.5.5. NPY A TYP NUTRIENTŮ V POTRAVĚ

NPY dále ovlivňuje výběr složení potravy a preferuje stravbu bohatou na sacharidy. Potkan rozdělení do dvou skupin měly navýbit různé makronutriční složky potravy: proteinů, tuků a sacharidů (skupina 1), anebo bezdovůživo komplexních potravin, z nichž jedna byla bohatá na sacharidy a druhá na tuky (skupina 2). U potkanů injikovaných NPY do PVN byl pozorován výběr sacharidové stravy, a to jak ve skupině 1, tak i ve skupině 2 (Welch et al. 1994).

3.5.6 OREXIGENNÍ RECEPTORY PRO NPY

NPY realizuje svůj účinek na příjem potravy interakcí s Y1 a Y5 receptorem. Oorexigenní efekt můžeme pozorovat u agonistů těchto dvou receptorů. Při kvapivém bložení, žeu Y1R nebo Y5R „knockoutovaných“ myšise nevyskytoval hubený nebo anorektický fenotyp, ale naopak tyto myši byly mírně obézní. Tento jev se vysvětluje kompenzací nedostatku NPY, Y1R nebo Y5R již během vývoje; například NPY „knockoutovaných“ myšise zvýšená expresí agouti-related proteinu u myšise deficientní pro Y1R byla pozorována snížená pohybová aktivita. Aťak, čionak, u Y1R „knockoutovaných“ myšise dochází k příjmu potravy závislé na hladování u Y5R „knockoutovaných“ myšise dochází k redukci konzumace prostředkované NPY; přiřídavek Y1R antagonisty myšise delecí pro Y5R zastaví příjem potravy zprostředkovaný NPY, což podporuje úlohu obou receptorů v regulaci stravování zprostředkovaném NPY (Henry et al. 2005).

Každý receptorale využívaným mechanismusů činku. Chronická aktivace Y5R vede k přírůstku hmotnosti kombinací řejídání seavýběru kalorických nutrientů (sacharidů), zatímco chronická aktivace Y1R způsobuje pouze preferenci konzumace travy bohaté na sacharidy. Chronická aktivace Y5R také způsobuje nárůst pouze viscerálního tukové tkáně, nesubkutánní, nadruhou stranou chronická aktivace Y1R způsobuje obecné říbitování naváže (Henry et al. 2005).

3.5.7. ANOREXIGENNÍ Y-RECEPTORY

Aktivace Y2R v ARC vede k anorexigennímu efektu, který slouží k vyvážení orexigenního činku NPY. Peptid YY(3-36), agonista Y2R, jen márně vyvolává investice v řejídání potravy jako dopověď na říjem potavy jako periferní injekce vede k poklesu konzumace. Hypotézu, že aktivace Y2R vede k hubenosti potvrzují skutečnost, že myšička delecí genu pro Y2R se přejídají, jsou méně aktivní, mají nadváhu a zvýšený obsah tukové tkáně (Henry et al. 2005).

Chronická aktivace centrálního Y2R způsobuje inhibici výlevu NPY z hypothalamických neuronů, což vede k snížení hmotnosti a přičiněné podvýživou (Henry et al. 2005).

3.6. FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ ENDOGENNÍ NPY

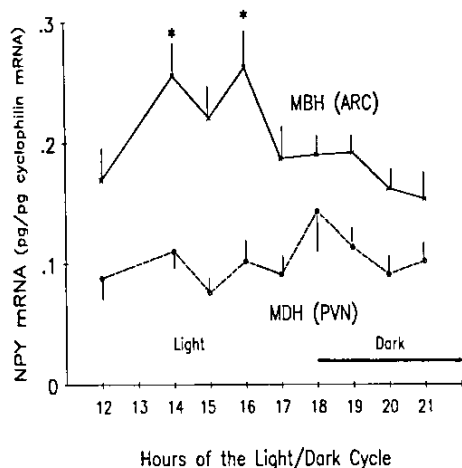
3.6.1. HLADOVĚNÍ

Jedním z nejdůležitějších faktorů majících vliv na expresi a uvolňování hypothalamického NPY je dlouhodobý nedostatek potravy. Potkani, kteří hladověli 48 hodin, měli protikontrolám pětkrát vyšší hladinu NPY v PVN a desetkrát v ARC. Po následném akrmění hladina NPY v ARC klesla během šestihodin napůvodní hodnotu, v PVN zůstala zvýšená. Koncentrace NPY v ostatních částech NPY zůstala po celou dobu pokusu nezměněna. Tato data potvrzují důležitou roli NPY syntetizovaného a uvolňovaného v ARC-PVN na říjem potravy (Beck et al. 1990).

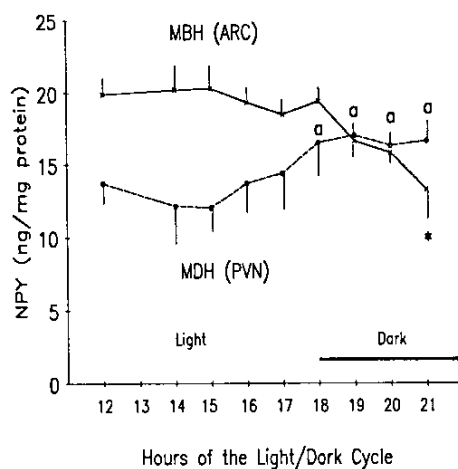
3.6.2. CIRKADIÁNNÍ OVLIVNĚNÍ

Hladina NPY v ARC potkanů významně závisí na cirkadiánním rytmu (uvažujeme-li dvanáctihodinovou denní fázi a dvanáctihodinovou fázi noční) (viz obrázek 9). Hladina mRNA pro

NPY prudce vzroste 3-4 hodiny před nástupem noční fáze, tato hladina se udržuje během následujících 2-3 hodin a prudce klesne jedinou hodinou před setměním. V těchto chvílích se opakují vysoké koncentrace NPY v PVN a nejím pokles dochází během první hodiny noční periody. Po těchto vzestupech se v obou oblastech objevuje charakteristický velký příjem stravy bohaté na sacharidy (pokud jim je nabízen výběr). Během prvního páru hodin noční periody dojde k uvolnění maximálního množství NPY z PVN a pokles jeho mRNA (Akabayashi et al. 1994a).



Obrázek 9: Koncentrace NPY mRNA v ARC a PVN vzhledem k cirkadiánnímu rytmu (Akabayashi et al. 1994a).



Obrázek 10: Koncentrace NPY v ARC a PVN vzhledem k cirkadiánnímu rytmu (Akabayashi et al. 1994a).

3.6.3. SLOŽENÍ STRAVY

Obsah makronutrientů v potravě ovlivňuje hladinu expresí mRNA hypothalamického NPY. Potkani byli rozděleni do čtyř skupin podle složení potravy, kterou konzumovaly po dobu jednoho týdne: 1) strava bohatá na sacharidy (a high-carbohydrate diet = HC), 2) střední obsah sacharidů (an intermediate-carbohydrate diet = IHC), 3) strava bohatá na tuky (a high-fat diet = HF) a 4) střední obsah tuků (an intermediate-fat diet = IHF); všechny skupiny přijímaly stejné množství proteinů (g/kcal). HF a IHF skupiny konzumovaly během studií menší množství jídla a všechny skupiny, kromě HC, přijaly podobné množství energie. Poté byly lipotkaním utraceny a byla stanovena hladina mRNA NPY v kůře ARC. Koncentrace NPY mRNA byla v ARC u HF skupiny

nižší než v HC; v kortexu nebyly nalezeny žádné rozdíly. Tentový výsledek nasvědčuje tomu, že konzumace sacharidů stimuluje syntézu uvolňování NPY z ARC (Giraud et al. 1994).

3.6.4. GLUKÓZA

Neurony obsahující NPY jsou citlivé na změny koncentrace glukózy v mozku, její hladina tak ovlivňuje výlev NPY z hypothalamu. Při hladovění dochází ke snížení koncentrace glukózy v plazmě mozku, což stimuluje syntézu uvolňování NPY z ARC, které vede ke zvýšení příjmu potravy (Muroya et al. 1999).

3.6.5. INZULIN

Inzulín má v mozku opačný účinek než NPY, potlačuje chuť k jídlu a příjem potravy, zároveň inhibuje expresi mRNA hypothalamického NPY. Při hladovění dochází ke poklesu plazmatického inzulínu, a tudíž i ke poklesu jeho distribuce v mozku; snížení tak inhibiční účinek inzulínu na expresi NPY mRNA a zároveň dochází ke zvýšení NPY a jeho výlevu z ARC (Schwartz et al. 1992).

3.6.6. LEPTIN

Neurony v ARC s NPY obsahují receptory pro leptin, který je produkován tukovými buňkami a jeho hlavní funkcí je adaptace organismu na hladovění. Leptin u nasycených potkanů inhibuje syntézu uvolňování hypothalamického NPY, a tudíž i příjem potravy, který je na něm závislý. Leptin dokáže zablokovat účinek pouzření kých dávek NPY, při maximální expresi NPY není jeho inhibice leptinem účinná. Naopak při hladovění plazmatická koncentrace leptinu klesá, a tím dochází ke regulaci expresi mRNA NPY v ARC (Sahu 1998).

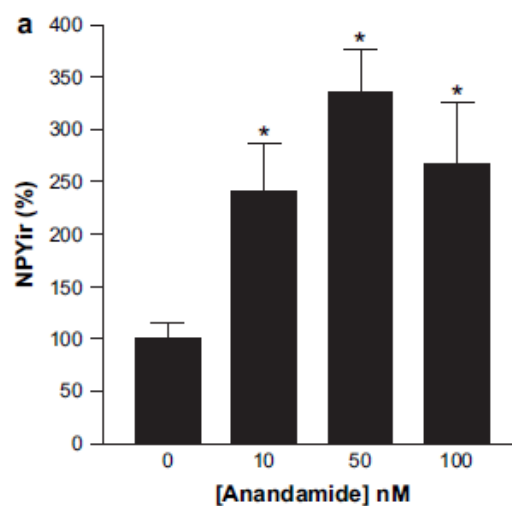
3.6.7. GLUKOKORTIKOIDY

Glukokortikoidy, steroidní hormony kůry nadledvin, působí v mozku mimo jiné jako regulátory příjmu potravy. Neurony obsahující NPY v ARC a PVN obsahují receptory pro kortikosteron (CORT), což už samo o sobě nasvědčuje o možnému vzájemném vztahu mezi těmito dvěma hormony. Důkazem vzájemné interakce mezi CORT a NPY bylo zjištění, že při intracerebroventrikulárním podání NPY a následném odstranění nadledvin dojde ke zrušeníorexigenního účinku NPY. Tato aktivita je znovu obnovena podání selektivního agonisty CORT; CORT má tedy stimulační účinek na expresi mRNA NPY (Akabayashi et al. 1994b).

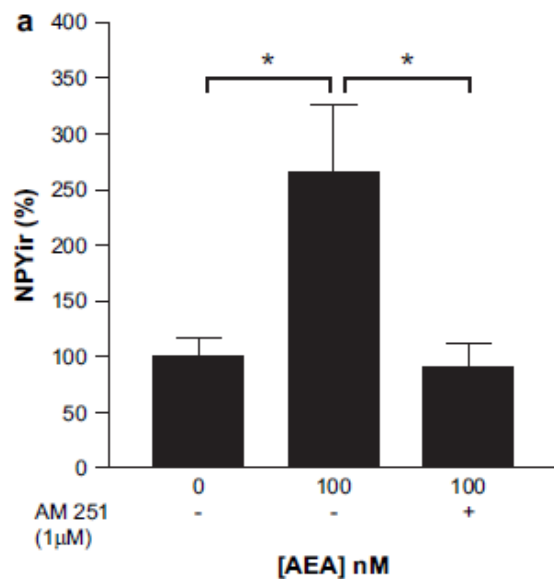
3.6.8. KANABINOIDY

Kanabinoidy mají stimulační účinek na říjmu potraviny. V mozku působí přes kanabinoidní receptor CB_1 , který se nachází v ARC, PVN, VMH a LH (laterální hypothalamus), kde stimuluje uvolňování NPY. K pozorování vztahu kanabinoidů a NPY byl použit jako modelový organismus potkan.

Agonisté kanabinoidního receptoru CB_1 , anandamid (AEA) a CP55,940, významně přispěly k uvolnění NPY (viz obrázek 11); antagonisty CB_1 AM251 toto uvolnění NPY zablokoval (viz obrázek 12). AM251 aplikovaný bezpřídatku exogenního kanabinoidu také inhiboval uvolnění NPY, čímž demonstroval účinek endogenních kanabinoidů na uvolnění NPY z hypothalamu. Tato studie předvedla, že přispěvek kanabinoidů k uvolnění NPY může být potenciálním mechanismem orexigenní účinku kanabinoidů a že tedy nejsou stimulující jímu potraviny samy o sobě (Gamber, MacArthur and Westfall 2005).



Obrázek 11: Vliv přídatku AEA na uvolnění hypothalamického NPY (Gamber et al. 2005).



Obrázek 12: Vliv přidavku antagonisty CB1 AM 251 na výlev NPY (Gamber et al. 2005).

3.6.9. OPIOIDY

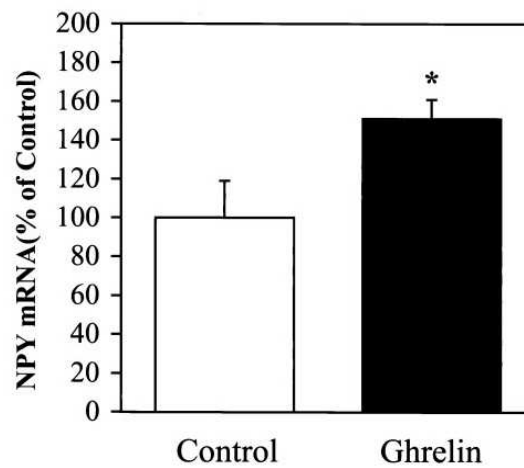
Neurony obsahující NPY vytvářejí synaptické spojení s opioidními neurony a také NPY není opioid, neváže se ani jak neaktivuje opioidní receptory, může být jehoorexigenní aktivita spojena s dráhami působení opioidů. Antagonisté receptorů κ (norbinaltorphimine), μ (β -funaltrexamine) a δ (naltrindole) snižují uvolnění NPY (Kotzeta 1993).

3.6.10. MELANOKORTIN

Melanokortin je skupina buzných peptidů, patří k řízení ziregulátorů říjmu potravy, využívají melanokortin-4 receptor (MC4-R) k blokadě v nichž obě zity modulace leptinu. MC4-R se nachází v oblastech PVN, kde je zároveň exprimován i mRNA pro Y1 receptor. Signální dráhy NPY a melanokortinu, které mají protichůdný účinek, se tedy sbíhají v PVN obsahujícími proněreceptory a přispívají ke koordinaci stravovací chování (Kishi et al. 2005).

3.6.11. GHRELIN

Hlavním místem sekrece ghrelinu je žaludek, v menší množství se nachází v hypothalamu, kde interaguje s receptorem pro sekreci ústového hormonu (GHS-R), který je přítomen v neuronech ARC obsahujících NPY. Centrální i periferní aplikace ghrelinu aktivuje výlev NPY z ARC (Kamegai et al. 2001) (viz obrázek 13).



Obrázek 13: Účinek ICV administrace ghrelinu na hladinu NPY mRNA v ARC krysy (Kamegai et al. 2001).

4. NPY A OBEZITA

4.1. NPY V GENETICKÝCH MODELECH OBEZITY

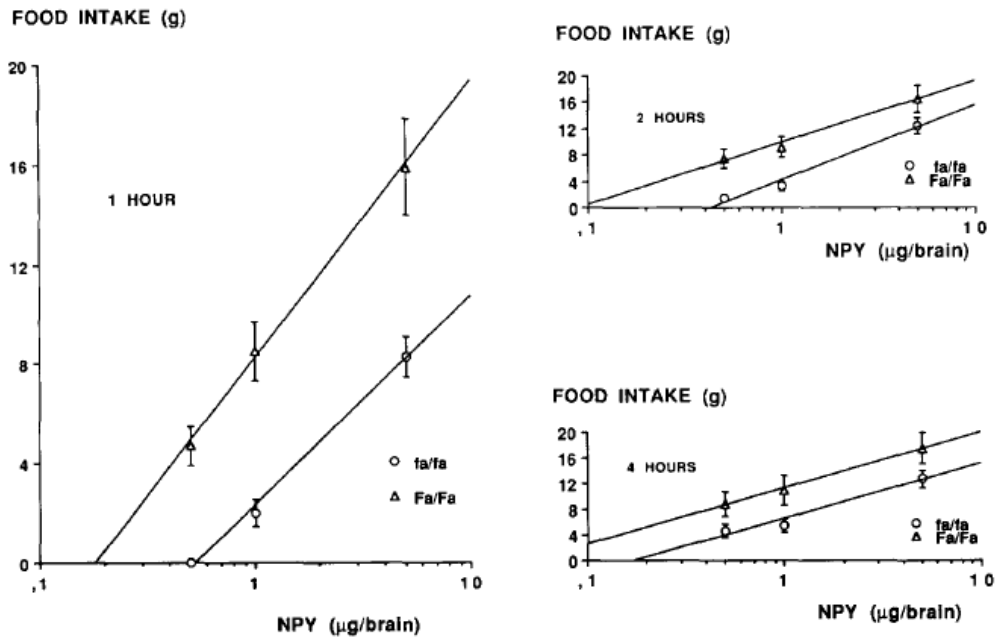
Většina využívaných genetických modelů obezity je dána poruchou signalizačního dráze leptinu. Zucker (*fa/fa*) rats sestává z obézních myšů v důsledku „missense“ mutace (= mutace s chybným smyslem = mutace mění smysl kodonu) v genu pro leptinový receptor, která vede ke snížení, ale ne k úplné eliminaci, citlivosti na leptin. Obézní *fa/fa* potkani nereagují na ICV injekci leptinu, odpovídají pozorovatelně až po velmi vysokých dávkách (Seeley et al. 1996).

U obézních *ob/ob* myšů se vyskytuje „nonsense“ mutace (= mutace bez smyslu = vznik stop kodonu) v genu pro leptin (*ob* genu), která způsobuje vznik funkčního heptidu. Nicméně leptin injikováný do hypothalamu *ob/ob* myšmi není stravovací návyky, což dokazuje, že receptorový mechanismus je funkční (Jang and Romsos 1998).

4.1.1. ZUCKER RAT

ICV injekce NPY stimuluje zvýšený příjem potravy jak u hubených, tak u obézních Zucker rats (viz obrázek 14). Tato stimulace je závislá na velikosti dávky NPY. Nejnižší možná dávka NPY, po které lze pozorovat účinek, je u hubených potkanů 3–4x nižší než u obézních. Obézní potkani jsou tedy méně citliví na exogenní NPY. Pokles senzitivity může být způsoben vysokou koncentrací endogenního NPY v různých částech mozku obézních Zucker rats, která má za následek down-regulaci receptorů pro NPY (Stricker, Krongrad et al. 1994).

ICV injekce NPY hubeným Zucker rats má za následek konzumaci většího množství potravy, nárůst počtu jídel během dne a prodloužení doby strávené příjmem potravy, a to v závislosti na velikosti podané dávky NPY. U obézních Zucker rats se snížení citlivosti na exogenní NPY projevuje nezměněným objemem přijaté potravy, počet jídel zadenádo baje jejich konzumace se změnila až po injekci velmi vysokých dávek NPY (Stricker, Krongrad et al. 1994).



Obrázek 14: Zvýšený příjem potravy po ICV injekci NPY po 1, 2 a 4 hodinách u homozygotních hubených (*Fa/Fa*) a obézních (*fa/fa*) Zucker (Strickerkrongrad et al. 1994).

4.1.2. *OB/OB* MYŠ

Koncentrace hypothalamického NPY u obézních *ob/ob* myší je o 55–75% vyšší, než u myší hubených. *ob/ob* myši mají vysokou hladinu RNANPY v ARC, v PVN a v normě, což potvrzuje syntézu NPY v ARC a jeho uvolňování do PVN a do plazmy (Jang and Romsos 1998).

Po 24-hodinovém hladovění následně 1-hodinové nakrmení došlo k dramatickým změnám hladiny NPY u hubených myší. Hladovění zvýšilo jejich koncentraci NPY v ARC, PVN a VMN o 70% a následně podání potravy vedlo k poklesu NPY v PVN na samotnou hodnotu. Stejně oblasti hypothalamu vykazovaly žádnou reakci na nedostatek jídla ani na opětovné podání potravy *ob/ob* myším (Jang and Romsos 1998).

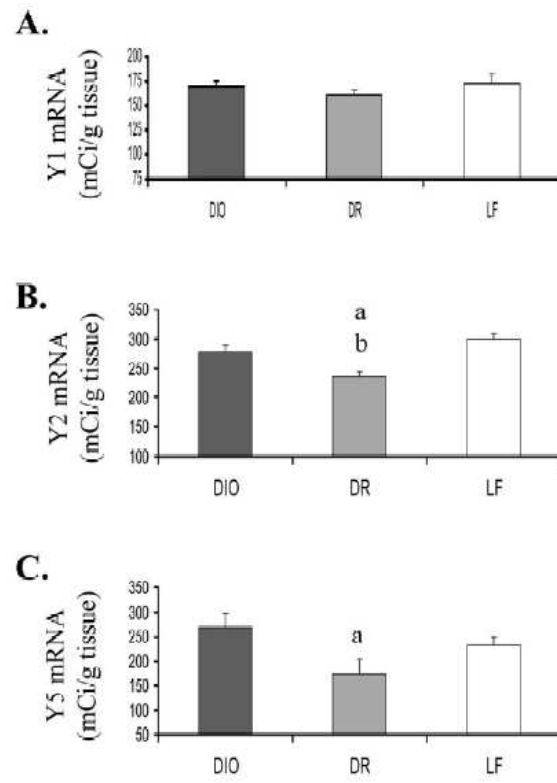
4.2. NPY v OBEZITĚ VYVOLANÉ STRAVOVACÍMI NÁVYKY (DIET-INDUCED OBESITY = DIO)

V studii ke zjištění hladiny mRNA pro NPY a množství NPY receptorů byly použity myši, které byly rozděleny do tří skupin:

- DIO (diet-induced obese mice) = myši, u kterých došlo ke vzniku obezity po čtyřech konzumaci potravy s vysokým obsahem tuku (40%).
- DR (diet-resistant mice) = myši, u kterých nedošlo ke vzniku obezity po čtyřech týdnech konzumaci potravy s vysokým obsahem tuku.
- LF (low-fat-fed mice) = myši, které po celou dobu studie konzumovaly potravu s nízkým obsahem tuku (10%).

Myši byly podrobeny tomu samému režimu podávání potravy po dobu dvou týdnů a poté celonošním hladověním. Byly měřeny energetický příjem a výdaj ve všech skupinách. DIO myši přijaly více energie než DR a LF po 22 týdnech a byly v vyšší hmotnosti než zbývající 2 skupiny. DIO myši byly proti DR a LF skupinám vyšší a měly vyšší množství viscerálního a subkutánního tuku (Huang, Han a Storlien 2003).

Hladina NPY mRNA v ARC byla u DIO skupin zvýšena oproti DR a LF myším. Množství mRNA pro Y1R v ARC se mezi jednotlivými skupinami nijak významně nelišilo, koncentrace mRNA pro Y2R v ARC byla u DR myši nižší než u DIO a LF. Hladina mRNA pro Y5R byla v ARC vyšší u DIO než u DR skupiny (viz obrázek 15). Redukce počtu Y2 a Y5 receptorů u DR myším může být příčinou jejich schopnosti odolávat nárůstu hmotnosti i po jejich vystavení potravě s vysokým obsahem tuku běžně vedoucí ke zvýšení hmotnosti (Huang et al. 2003).



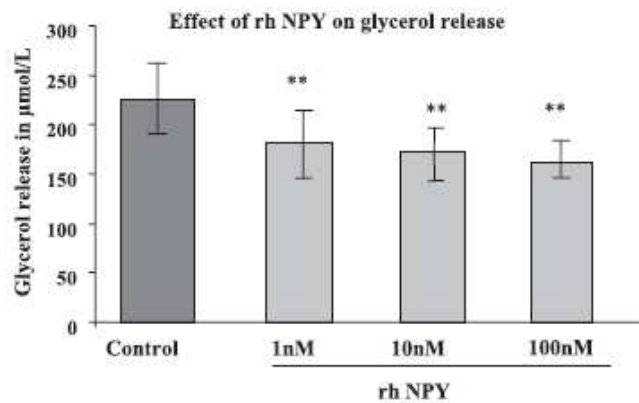
Obrázek 15: Hladiny mRNA pro Y1, Y2 a Y5 receptor u DIO, DR a LF myší (Huang et al. 2003).

5. NPY EXPIMOVANÝ V TUKOVÉ TKÁNI

Aktivita NPY byla znamenána nejen v centrální a periferní nervové soustavě, ale i v dalších tkáních, které pro něj mají receptory. Mezi ně patří i tuková (Kos et al. 2007).

ICV injekce NPY způsobuje upregulaci lipoproteinové lipázy (LPL), klíčového enzymu v lipogenezi. NPY tak vykazuje antilipolytický účinek zprostředkovaný receptorem Y1R tukové tkáně (Kos et al. 2007) (viz obrázek 16).

V roce 2007 byla prokázána syntéza NPY v tukové tkáni adipocytů (Kos et al., 2007); NPY tak ovlivňuje funkci periferní tkáně a orgánů nejen díky inervaci, ale i lokální produkci specifického parakrinním efektem. NPY produkovaný tukovou tkání tak může ovlivňovat její vlastokrinní či parakrinně, přímo i nepřímo. Nejvýznamnějším místem exprese NPY je podkožní tuková tkáň, která má nejvyšší obsah NPY mRNA v abdominální oblasti. Subkutánní tuková tkáň má navíc vysoké množství obézních pacientů a zaujímá více než 50% celkové hmotnosti tukové tkáně. Má tedy významní postavení v endokrinní aktivitě zprostředkované celkovou tukovou tkání (Kos et al. 2007).



Obrázek 16: Účinek lidského rekombinantního NPY (rh NPY) na uvolňování glycerolu z triglyceridů (Kos et al. 2007).

Santilipolytickým účinkem NPY tukové tkáně souvisí regulace jeho syntézy inzulinem, kterým je ovlivněna periferní opacný účinek ve CNS, tzn. že tuková tkáň podporuje uvolňování NPY. Tento jev může mít velký význam v stavu hyperinzulinemie, která je asociována s metabolickým syndromem a diabetem mellitus typu 2; tato hypotéza však vyžaduje potvrzení dalšími *in vivo* experimenty (Kos et al. 2007).

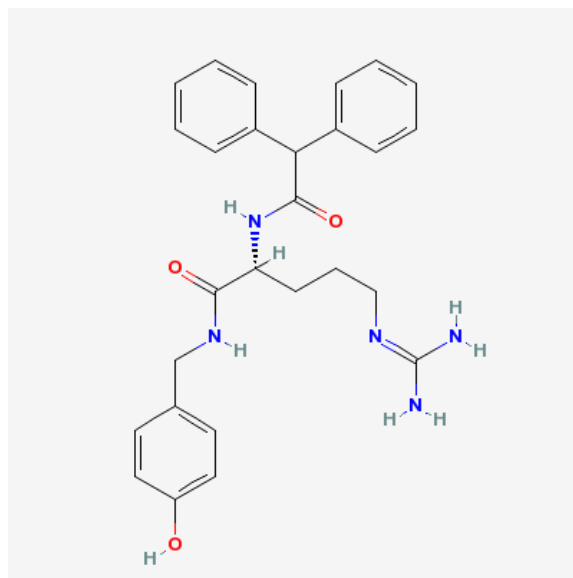
NPY pocházející z tukové tkáně nijak výrazně neovlivňuje uvolňování adipokinů (adiponektinu a TNF- α), ale je schopný redukovat výlev leptinu. Jelikož má leptin na tukovou tkáň opačnou činnost než NPY (NPY je adipogenní, zatímco leptin antiadipogenní), je pravděpodobně tato inhibice nutná ke schopnosti NPY ukládat tuk z využití jeho antilipolytické účinky. Leptin také upreguluje proliferaci preadipocytů, NPY tak může díky snížení jeho sekrece stimlovat maturaci tukových buněk (Kos et al. 2007).

Zvýšená hladina cirkulujícího NPY u obézních subjektů a pacientů s diabetem mellitus typu 2 by mohla být výsledkem snížené schopnosti NPY pocházející z tukové tkáně vstupovat do krevního řečiště a pronikat hematoencefalickou bariérou; toto je však hypotéza, která vyžaduje další *in vivo* studie (Kos et al. 2007).

6. TERAPEUTICKÝ VÝZNAM LIGANDŮ PRO NPY RECEPTORY

6.1. ANTAGONISTÉ Y1 RECEPTORU

Antagonisté Y1R potlačují říjempotravy, a mají tak velký význam v léčbě obezity. Po identifikaci BIBP3226 (viz obrázek 17), derivátu argininu, prvního non-peptidového antagonisty, byly popsány další malé molekuly vykazující antagonistický účinek NPY, například dihydropyridiny, indoly, benzimidazoly, aminopyridiny a tetrahydrokarbazoly (Sun et al. 2010).



Obrázek 17: BIBP3226 ((2R)-5-(diaminomethylideneamino)-2-[(2,2-diphenylacetyl)amino]-N-[(4-hydroxyphenyl)methyl]pentanamide). Převzato z http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=5311023&loc=ec_rcs

6.2. ANTAGONISTÉ Y5 RECEPTORU

Vysoceselektivní antagonisté Y5R snižují říjempotravy a hromadění tlesnéhotuku u DIOMyšiá potkanů, u kterých tak dochází k úbytku hmotnosti. Toto však bylo pozorováno u hubených jedinců a uhlodavců s deficitem leptinových receptorů, kteří byli vystaveni stejné dávce antagonisty Y5R.

Anorexigenní účinek antagonistů Y5R se tedy projevuje pouze u obézních jedinců (Ishihara et al. 2006).

Zatímco antagonisté Y1R jsou významnými regulátory příjmu potravy, o antagonistech Y5R toto jednoznačně říct nelze. CGP71683A, Y5R antagonist, potlačuje nárůst hmotnosti jako DIO modelů, tak u jedinců, jejichž obezita je dána geneticky. Následné studie však ukázaly, že účinek CGP71683A není zprostředkovaný Y5R, protože CGP71683A je vysocafinním uskarinovým receptorem a serotoninovým transportérem. Tento antagonist navíc působí v myších „knockoutovaných“ U jiného Y5R antagonisty, NPY5RA-972, naopak nebyly pozorovány žádné účinky na regulaci příjmu potravy. Tato zjištění však nevykládají, že ostatní Y5R antagonisté, působící mechanismem zprostředkovaným Y5R, mohou být potenciálními léky na obezitu (Ishihara et al. 2006).

6.3. AGONISTÉ Y2 RECEPTORU

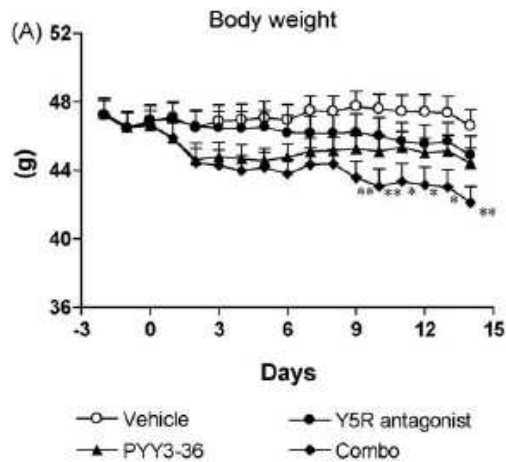
Anorexigenní peptid YY(3-36)(PYY(3-36)), agonista Y2R, potlačuje příjem potravy u hladověících lidí a redukuje hmotnost u potkanů. Tento vliv není pozorován u Y2R „knockoutovaných“ myšiček ani po přidání selektivního antagonisty Y2R, což ukazuje, že anorexigenní účinek PYY(3-36) je zprostředkovaný Y2R. Díky tomu lze zjištění, že Y2R je jedním z uvažovaných cílových strukturálních účinných látek u protiobezitě (Moriya et al. 2009).

6.4. ANTI OBEZNÍ ÚČINEK Y2R AGONISTŮ V KOMBINACI S Y5R ANTAGONISTY

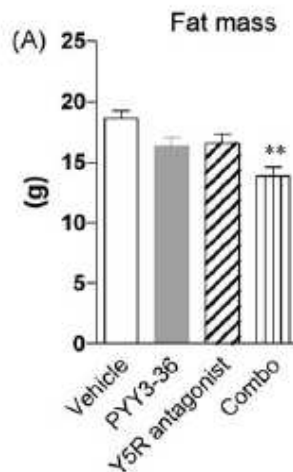
Blokace Y5R a stimulace Y2R způsobuje antiobézní účinek u hladověících lidí díky rozdílným mechanismům: blokace Y5R vede ke snížení příjmu potravy a zároveň k většímu výdeji energie, zatímco chronická stimulace Y2R vyvolá pokles příjmu kalorií. Tyto odlišné mechanismy účinku vedly k úvodnímu zjednotnění kombinace ligandů pro Y2 a Y5 receptory a vedly k většímu úbytku hmotnosti než při aplikaci každého zvlášť (Moriya et al. 2009).

Chronické (14-tidenní) působení samotného PYY(3-36) nebo samotného Y5R antagonisty způsobuje v obou případech pokles celkové hmotnosti v účinku kontrolám o 4%. Vliv na příjem potravy je však u každého z ligandů rozdílný; chronické podávání PYY(3-36) navozuje 13% snížení příjmu potravy, kdežto chronické podávání Y5R antagonisty 7% snížení v porovnání s kontrolami (Moriya et al. 2009).

14-tidenníp úsobeníkombinovanélé čbym ělonasnřženíp řřjmupotravy,poklest ělesnehmotnostia úbytektukovětškán ětém ěřstejnýú činekjakohypotetickýsou četvliv úsamostatn ěpodávaných ligandů.Tytovýsledkynazna čují,žeterapievyužívajícíY2RagonistyspolusY5 Rantagonistymá silnýaditivníantioběžnůú činek(Moriyaetal.2009)(vizobrázek18a19).



Obrázek 18: Účinek kombinované léčby podání PYY(3-36) (subkutánně: 1 mg/kg/den) s Y5R antagonistou (perorálně 10 mg/kg/den) na tělesnou hmotnost DIO myší (Moriya et al. 2009).



Obrázek 19: Účinek kombinované léčby podání PYY(3-36) (subkutánně: 1 mg/kg/den) s Y5R antagonistou (perorálně 10 mg/kg/den) na množství tuku DIO myší (Moriya et al. 2009).

7. DISKUZE A ZÁVĚR

V lokalizační a identifikaci receptorů NPY v částnicích s regulací říjmupotravy a kontroly tělesné hmotnosti byl spíše rychlým metodou *insitu* hybridizace, imunohistochemie, „ligand binding“ technikou učiněn velký pokrok. V současnosti je známo, že Y1, Y2a a Y5 receptory se účastní regulace říjmu a výdeje energie, ovlivňují energetickou homeostázu a zeta k činní pomocí rozdílných mechanismů. Aktivace jednotlivých typů receptorů může vést k podobnému účinku, kterého však dosáhne prostřednictvím odlišných drah, aktivace nebodelece velkého počtu různých receptorů stále přináší rozmanité výsledky. Chronická aktivace Y5 receptoru vede k nárůstu hmotnosti díky kombinaci přejídání se avšak i vysokokalorické (sacharidové) stravy, chronická aktivace Y1 Růstivestejný výsledek, který je zprostředkován pouze efektem avšak i sacharidové stravy. Chronická aktivace Y2R naopak způsobuje úbytek hmotnosti způsobený podvýživou a zvýšením výdeje energie (Henry et al. 2005).

Provedené experimenty naznačují, že mechanismy, jakými Y receptory moduluji stravu a výdeje energie, vyžadují další studie. Stále není jasné, zda mezi receptory zprostředkovávají účinky NPY, jeho agonisty a antagonisty existuje synergie, redundance, nebo kompenzace, nebo zda jsou ony samy ovlivňovány jinými regulátory energetické bilance. Současné se však využívá zatím získaných poznatků o vlivu inhibic nebo aktivace rozdílných typů receptorů na úbytek tělesné hmotnosti kvůl vývoji nového léku proti obezitě (Parker, Van Heek a Stamford 2002).

Jelikož NPY se účastní široké škály fyziologických procesů, které jsou z velké části zprostředkovány Y1 a Y5 receptory, musí se při přípravě jejich antagonistů brát v úvahu potenciální vedlejší účinky. Aktivace Y1 R způsobuje zvýšení krevního tlaku, proliferaci prekurzorů nervových buněk, analgézi, modulaci sekrece hormonů hypofýzy a pšpívá k projevu úpocit úzkosti (Naveilhan et al. 2001, podle Parker et al. 2002). Zajímavé je, že antagonista Y1 R nijak neovlivňuje krevní tlak (Doodset al. 1999, podle Parker et al. 2002). Přetrvává u nich anxiolytický účinek aurychlujíná stupu puberty, což pravěpodobně souvisí s jejich účinkem na sekreci gonadotropinů (Pralong et al. 2000, podle Parker et al. 2002). Aktivace Y5 R působí anti-epilepticky, moduluje cirkadiánní rytmy, reguluje sekreci hypofyzárních hormonů, natriurezu a pokles koncentrace plazmatické glukózy (Raposinho et al. 1999, podle Parker et al. 2002). Určeni vlivu antagonistů Y5 R na tyto faktory však vyžadují další experimentální studie.

Ačkoli v klinických testech nebyly léky využívající Y2 receptory pozorovány žádné vážné vedlejší efekty (Cooke and Bloom 2006, podle Kamiji and Inui 2007), intranazální podání vedlo u určitých koncentrací k pocitům nevolnosti a zvracení a u některých pacientů také k pocitům otáčení, bušení srdce, zrychlenému dýchání a závratím. Na druhé straně, jiné léky proti obezitě způsobovaly u pacientů nevolnost a závrať, takidiaréu, pocit úzkosti, deprese, nespavost a bolest kloubů (Zipf, Odoriso and Berntson 1990, podle Kamiji and Inui 2007).

Pozitivní účinky dlouhodobého podávání pozitivních efektů u léčebných látek odvozených od NPY budou jedním z hlavních důvodů zahájení vývoje těchto nových léků a snížení úmrtnosti. Kombinace selektivního agonisty Y2R s antagonistou Y5R (Y1R) se zdá být zatím nejlepším možným lékem proti obezitě s potenciálem využití v budoucnosti.

8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

<http://obesity-news.cz/?pg=uvod&id=31>

http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=5311023&loc=ec_rcs

<http://www.ebi.ac.uk/pdbe-srv/view/entry/Iron/summary>

<http://www.obezita.cz/obezita/v-cr-a-ve-svete/>

http://www.scientificimages.co.uk/Proteins/GPCR_membrane.jpg

- Akabayashi, A., N. Levin, X. Paez, J. T. Alexander & S. F. Leibowitz (1994a) HYPOTHALAMIC NEUROPEPTIDE-Y AND ITS GENE-EXPRESSION - RELATION TO LIGHT/DARK CYCLE AND CIRCULATING CORTICOSTERONE. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 5, 210-218.
- Akabayashi, A., Y. Watanabe, C. Wahlestedt, B. S. McEwen, X. Paez & S. F. Leibowitz (1994b) HYPOTHALAMIC NEUROPEPTIDE-Y, ITS GENE-EXPRESSION AND RECEPTOR ACTIVITY - RELATION TO CIRCULATING CORTICOSTERONE IN ADRENALECTOMIZED RATS. *Brain Research*, 665, 201-212.
- Baker, E., Y. J. Hort, H. Ball, G. R. Sutherland, J. Shine & H. Herzog (1995) ASSIGNMENT OF THE HUMAN NEUROPEPTIDE-Y GENE TO CHROMOSOME 7P15.1 BY NONISOTOPIC IN-SITU HYBRIDIZATION. *Genomics*, 26, 163-164.
- Beck, B., M. Jhanwarunial, A. Burlet, M. Chapleurchateau, S. F. Leibowitz & C. Burlet (1990) RAPID AND LOCALIZED ALTERATIONS OF NEUROPEPTIDE-Y IN DISCRETE HYPOTHALAMIC NUCLEI WITH FEEDING STATUS. *Brain Research*, 528, 245-249.
- Bohus, B. & D. Dewied (1966) INHIBITORY AND FACILITATORY EFFECT OF 2 RELATED PEPTIDES ON EXTINCTION OF AVOIDANCE BEHAVIOR. *Science*, 153, 318-&. *
- Brownstein, M. J., J. T. Russell & H. Gainer (1980) SYNTHESIS, TRANSPORT, AND RELEASE OF POSTERIOR PITUITARY-HORMONES. *Science*, 207, 373-378. *
- Burbach, J. P. H. (2010) Neuropeptides from concept to online database www.neuropeptides.nl. *European Journal of Pharmacology*, 626, 27-48.
- Cooke, D. & S. Bloom (2006) The obesity pipeline: current strategies in the development of anti-obesity drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5, 919-931. *
- Dewied, D. (1971) LONG TERM EFFECT OF VASOPRESSIN ON MAINTENANCE OF A CONDITIONED AVOIDANCE RESPONSE IN RATS. *Nature*, 232, 58-&. *
- Doods, H., W. Gaida, H. A. Wieland, H. Dollinger, G. Schnorrenberg, F. Esser, W. Engel, W. Eberlein & K. Rudolf (1999) BIIE0246: A selective and high affinity neuropeptide YY2 receptor antagonist. *European Journal of Pharmacology*, 384, R3-R5. *
- Flood, J. F. & J. E. Morley (1991) INCREASED FOOD-INTAKE BY NEUROPEPTIDE-Y IS DUE TO AN INCREASED MOTIVATION TO EAT. *Peptides*, 12, 1329-1332.
- Fuhlendorff, J., N. L. Johansen, S. G. Melberg, H. Thogersen & T. W. Schwartz (1990) THE ANTIPARALLEL PANCREATIC-POLYPEPTIDE FOLD IN THE BINDING OF NEUROPEPTIDE-Y TO Y1-RECEPTORS AND Y2-RECEPTORS. *Journal of Biological Chemistry*, 265, 11706-11712.
- Gamber, K. M., H. Macarthur & T. C. Westfall (2005) Cannabinoids augment the release of neuropeptide Y in the rat hypothalamus. *Neuropharmacology*, 49, 646-652.
- Gardiner, J. V., W. M. Kong, H. Ward, K. G. Murphy, W. S. Dhillon & S. R. Bloom (2005) AAV mediated expression of anti-sense neuropeptide Y cRNA in the arcuate nucleus of rats results in decreased weight gain and food intake. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 327, 1088-1093.

- Giraudo, S. Q., C. M. Kotz, M. K. Grace, A. S. Levine & C. J. Billington (1994) RAT HYPOTHALAMIC NPY MESSENGER-RNA AND BROWN FAT UNCOUPLING PROTEIN MESSENGER-RNA AFTER HIGH-CARBOHYDRATE OR HIGH-FAT DIETS. *American Journal of Physiology*, 266, R1578-R1583.
- Henry, M., L. Ghibaudi, J. Gao & J. J. Hwa (2005) Energy metabolic profile of mice after chronic activation of central NPY1, Y2, or Y5 receptors. *Obesity Research*, 13, 36-47.
- Hoyle, C. H. V. (1999) Neuropeptide families and their receptors: evolutionary perspectives. *Brain Research*, 848, 1-25.
- Huang, X. F., M. Han & L. H. Storlien (2003) The level of NPY receptor mRNA expression in diet-induced obese and resistant mice. *Molecular Brain Research*, 115, 21-28.
- Ioannides-Demos, L. L., J. Proietto, A. M. Tonkin & J. J. McNeil (2006) Safety of drug therapies used for weight loss and treatment of obesity. *Drug Safety*, 29, 277-302. *
- Ishihara, A., A. Kanatani, S. Mashiko, T. Tanaka, M. Hidaka, A. Gomori, H. Iwaasa, N. Murai, S. Egashira, T. Murai, Y. Mitobe, H. Matsushita, O. Okamoto, N. Sato, M. Jitsuoka, T. Fukuroda, T. Ohe, X. M. Guan, D. J. MacNeil, L. H. T. Van der Ploegh, M. Nishikibe, Y. Ishii, M. Ihara & T. Fukami (2006) A neuropeptide YY5 antagonist selectively ameliorates body weight gain and associated parameters in diet-induced obese mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103, 7154-7158.
- Jang, M. Y. & D. R. Romsos (1998) Neuropeptide Y and corticotropin-releasing hormone concentrations within specific hypothalamic regions of lean but not ob/ob mice respond to food-deprivation and refeeding. *Journal of Nutrition*, 128, 2520-2525.
- Jolicoeur, F. B., S. M. Bouali, A. Fournier & S. Stpierre (1995) MAPPING OF HYPOTHALAMIC SITES INVOLVED IN THE EFFECTS OF NPY ON BODY-TEMPERATURE AND FOOD-INTAKE. *Brain Research Bulletin*, 36, 125-129.
- Kamegai, J., H. Tamura, T. Shimizu, S. Ishii, H. Sugihara & I. Wakabayashi (2001) Chronic central infusion of ghrelin increases hypothalamic neuropeptide Y and agouti-related protein mRNA levels and body weight in rats. *Diabetes*, 50, 2438-2443.
- Kamiji, M. M. & A. Inui (2007) Neuropeptide Y receptor selective ligands in the treatment of obesity. *Endocrine Reviews*, 28, 664-684.
- Kishi, T., C. J. Aschkenasi, B. J. Choi, M. E. Lopez, C. E. Lee, H. Y. Liu, A. N. Hollenberg, J. M. Friedman & J. K. Elmquist (2005) Neuropeptide Y Y1 receptor mRNA in rodent brain: Distribution and colocalization with melanocortin-4 receptor. *Journal of Comparative Neurology*, 482, 217-243.
- Kopelman, P. G. (2005) Clinical treatment of obesity: are drugs and surgery the answer? *Proceedings of the Nutrition Society*, 64, 65-71. *
- Kos, K., A. L. Harte, S. James, D. R. Snead, J. P. O'Hare, P. G. McTernan & S. Kumar (2007) Secretion of neuropeptide Y in human adipose tissue and its role in maintenance of adipose tissue mass. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 293, E1335-E1340.
- Kotz, C. M., M. K. Grace, C. J. Billington & A. S. Levine (1993) THE EFFECT OF NORBINALTORPHIMINE, BETA-FUNALTREXAMINE AND NALTRINDOLE ON NPY-INDUCED FEEDING. *Brain Research*, 631, 325-328.
- Larhammar, D., A. Ericsson & H. Persson (1987) STRUCTURE AND EXPRESSION OF THE RAT NEUROPEPTIDE-Y GENE. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 84, 2068-2072.
- Larhammar, D., A. Wraith, M. M. Berglund, S. K. S. Holmberg & I. Lundell (2001) Origins of the many NPY-family receptors in mammals. *Peptides*, 22, 295-307.
- Li, Z. P., M. Maglione, W. L. Tu, W. Mojica, D. Arterburn, L. R. Shugarman, L. Hilton, M. Suttrop, V. Solomon, P. G. Shekelle & S. C. Morton (2005) Meta-analysis: Pharmacologic treatment of obesity. *Annals of Internal Medicine*, 142, 532-546. *
- Ludwig, R., R. Lucius & R. Mentlein (1995) A radioactive assay for the degradation of neuropeptide Y. *Biochimie*, 77, 739-743.
- Mains, R. E., E. I. Cullen, V. May & B. A. Eipper (1987) THE ROLE OF SECRETORY GRANULES IN PEPTIDE BIOSYNTHESIS. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 493, 278-291.

- Meister, B. (2007) Neurotransmitters in key neurons of the hypothalamus that regulate feeding behavior and body weight. *Physiology & Behavior*, 92, 263-271. *
- Minth, C. D., S. R. Bloom, J. M. Polak & J. E. Dixon (1984) CLONING, CHARACTERIZATION, AND DNA-SEQUENCE OF A HUMAN CDNA-ENCODING NEUROPEPTIDE TYROSINE. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America-Biological Sciences*, 81, 4577-4581.
- Minth, C. D. & J. E. Dixon (1990) EXPRESSION OF THE HUMAN NEUROPEPTIDE-Y GENE. *Journal of Biological Chemistry*, 265, 12933-12939.
- Minthorby, C. A. (1994) TRANSCRIPTIONAL REGULATION OF THE HUMAN NEUROPEPTIDE-Y GENE BY NERVE GROWTH-FACTOR. *Journal of Biological Chemistry*, 269, 15460-15468.
- Moriya, R., S. Mashiko, A. Ishihara, T. Takahashi, T. Murai, J. Ito, Y. Mitobe, Z. Oda, H. Iwaasa, F. Takehiro & A. Kanatani (2009) Comparison of independent and combined chronic anti-obese effects of NPY Y2 receptor agonist, PYY(3-36), and NPY Y5 receptor antagonist in diet-induced obese mice. *Peptides*, 30, 1318-1322.
- Morley, J. E., E. N. Hernandez & J. F. Flood (1987) NEUROPEPTIDE-Y INCREASES FOOD-INTAKE IN MICE. *American Journal of Physiology*, 253, R516-R522.
- Muroya, S., T. Yada, S. Shioda & M. Takigawa (1999) Glucose-sensitive neurons in the rat arcuate nucleus contain neuropeptide Y. *Neuroscience Letters*, 264, 113-116.
- Naveilhan, P., H. Hassani, G. Lucas, K. H. Blakeman, J. X. Hao, X. J. Xu, Z. Wiesenfeld-Hallin, P. Thoren & P. Ernfors (2001) Reduced antinociception and plasma extravasation in mice lacking a neuropeptide Y receptor. *Nature*, 409, 513-517. *
- Neary, N. M., A. P. Goldstone & S. R. Bloom (2004) Appetite regulation: from the gut to the hypothalamus. *Clinical Endocrinology*, 60, 153-160.
- Neary, N. M., C. J. Small & S. R. Bloom (2003) Gut and mind. *Gut*, 52, 918-921. *
- Parker, E., M. Van Heek & A. Stamford (2002) Neuropeptide Y receptors as targets for anti-obesity drug development: perspective and current status. *European Journal of Pharmacology*, 440, 173-187.
- Pralong, F. P., M. J. Voirol, M. Giacomini, R. C. Gaillard & E. Grouzmann (2000) Acceleration of pubertal development following central blockade of the Y1 subtype of neuropeptide Y receptors. *Regulatory Peptides*, 95, 47-52. *
- Raposo, P. D., P. Broqua, D. D. Pierroz, A. Hayward, Y. Dumont, R. Quirion, J. L. Junien & M. L. Aubert (1999) Evidence that the inhibition of luteinizing hormone secretion exerted by central administration of neuropeptide Y (NPY) in the rat is predominantly mediated by the NPY-Y5 receptor subtype. *Endocrinology*, 140, 4046-4055. *
- Sahu, A. (1998) Leptin decreases food intake induced by melanin-concentrating hormone (MCH), galanin (GAL) and neuropeptide Y (NPY) in the rat. *Endocrinology*, 139, 4739-4742.
- Schwartz, M. W., A. J. Sipols, J. L. Marks, G. Sanacora, J. D. White, A. Scheurink, S. E. Kahn, D. G. Baskin, S. C. Woods, D. P. Figlewicz & D. Porte (1992) INHIBITION OF HYPOTHALAMIC NEUROPEPTIDE-Y GENE-EXPRESSION BY INSULIN. *Endocrinology*, 130, 3608-3616.
- Seeley, R. J., G. vanDijk, L. A. Campfield, F. J. Smith, P. Burn, J. A. Nelligan, S. M. Bell, D. G. Baskin, S. C. Woods & M. W. Schwartz (1996) Intraventricular leptin reduces food intake and body weight of lean rats but not obese Zucker rats. *Hormone and Metabolic Research*, 28, 664-668.
- Stanley, B. G. & S. F. Leibowitz (1985) NEUROPEPTIDE-Y INJECTED IN THE PARAVENTRICULAR HYPOTHALAMUS - A POWERFUL STIMULANT OF FEEDING-BEHAVIOR. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 82, 3940-3943.
- Strickerkrongrad, A., J. P. Max, N. Musse, J. P. Nicolas, C. Burlet & B. Beck (1994) INCREASED THRESHOLD CONCENTRATIONS OF NEUROPEPTIDE-Y FOR A STIMULATORY EFFECT ON FOOD-INTAKE IN OBESE ZUCKER RATS - CHANGES IN THE MICROSTRUCTURE OF THE FEEDING-BEHAVIOR. *Brain Research*, 660, 162-166.

- Sun, Z. Y., Z. N. Zhu, Y. Z. Ye, B. McKittrick, M. Czarniecki, W. Greenlee, D. Mullins & M. Guzzi (2010) Discovery and SAR of cyclic isothioureas as novel NPY Y-1 receptor antagonists (vol 19, pg 6801, 2009). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20, 1800-1800.
- Tatemoto, K. (1982) NEUROPEPTIDE-Y - COMPLETE AMINO-ACID-SEQUENCE OF THE BRAIN PEPTIDE. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America-Biological Sciences*, 79, 5485-5489.
- Tatemoto, K. & V. Mutt (1980) ISOLATION OF 2 NOVEL CANDIDATE HORMONES USING A CHEMICAL METHOD FOR FINDING NATURALLY-OCCURRING POLYPEPTIDES. *Nature*, 285, 417-418. *
- Welch, C. C., M. K. Grace, C. J. Billington & A. S. Levine (1994) PREFERENCE AND DIET TYPE AFFECT MACRONUTRIENT SELECTION AFTER MORPHINE, NPY, NOREPINEPHRINE, AND DEPRIVATION. *American Journal of Physiology*, 266, R426-R433.
- Zipf, W. B., T. M. Odorisio & G. G. Berntson (1990) SHORT-TERM INFUSION OF PANCREATIC-POLYPEPTIDE - EFFECT ON CHILDREN WITH PRADER-WILLI SYNDROME. *American Journal of Clinical Nutrition*, 51, 162-166. *

* převzaté citace z přehledných článků