

Received: 2003.06.07

Accepted: 2003.07.27

Published: 2004.02.26

Peptyd histydyno-izoleucynowy i jego ludzki analog peptyd histydyno-metioninowy: występowanie, receptory i funkcja biologiczna*

Peptide histidine-isoleucine and its human analogue peptide histidine-methionine: localization, receptors and biological function

Agnieszka Dejda¹, Izabela Matczak¹, Jerzy Z. Nowak^{1,2}

¹Centrum Biologii Medycznej i Mikrobiologii, Polska Akademia Nauk, Łódź

²Zakład Farmakologii Katedry Farmakologii i Farmakologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny, Łódź

Streszczenie

Peptyd histydyno-izoleucynowy (PHI) i jego ludzki analog peptyd histydyno-metioninowy (PHM) należą do strukturalnie zbliżonej nadrodziny polipeptydów obejmującej, poza wymienionymi, także polipeptyd aktywujący przysadkową cyklazę adenylanową (PACAP), naczyniowoaktywny peptyd jelitowy (VIP), peptyd histydyno-walinowy (PHV) czy heloderminę. Wszystkie te peptydy charakteryzują się pleiotropową aktywnością biologiczną. PHI, PHM, PHV i VIP powstają z tego samego prekursora i wykazują duże podobieństwo zarówno w strukturze, jak i funkcji. Mogą one działać poprzez wspólne receptory. Mimo że są szeroko rozpowszechnione w organizmie (ośrodkowy układ nerwowy, przewód pokarmowy, układ oddechowy, układ rozrodczy) ich rola nie jest do końca wyjaśniona. Fakt, że poziom tych peptydów w płynach ustrojowych i tkankach ulega zmianom w przebiegu różnych chorób sugeruje, że mogą być one bardzo ważnymi i pomocnymi wskaźnikami w diagnostyce. Właściwości neurotroficzne i neuroprotektoryjne PHI, podobnie jak w przypadku VIP i PACAP, wskazują na możliwy potencjał terapeutyczny tych peptydów w wielu chorobach neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera i choroba Parkinsona.

Słowa kluczowe:

peptyd histydyno-izoleucynowy • PHI • peptyd histydyno-metioninowy • PHM • peptyd histydyno-walinowy • PHV • naczyniowoaktywny peptyd jelitowy • VIP • polipeptyd aktywujący przysadkową cyklazę adenylanową • PACAP

SUMMARY

Peptide histidine-isoleucine (PHI) and its human analogue peptide histidine-methionine (PHM) are members of a superfamily of structurally related peptides embracing, among others, pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP), vasoactive intestinal peptide (VIP), peptide histidine-valine (PHV), and helodermin. All the peptides display a pleiotropic biological activity. PHI, PHM, PHV and VIP are co-synthesized from the same precursor and share high levels of structural and functional similarity. These peptides may act through common receptors and are widely distributed throughout the body tissues (the central nervous system, gastrointestinal tract, respiratory system, and reproductive system); however, their role remains largely unknown. Changes in the levels of the peptides in the course of different diseases suggest their possible importance and usefulness in diagnostics. Moreover, the neurotrophic and neuroprotective properties of PHI suggest, by analogy to VIP or PACAP, its therapeutic potential in many neurodegenerative diseases, such as Alzheimer's and Parkinson's disease.

Key words:

peptide histidine-isoleucine • PHI • peptide histidine-methionine • PHM • peptide histidine-valine • PHV • vasoactive-intestinal peptide • VIP • pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide • PACAP

Adres autora:

prof. dr hab. Jerzy Z. Nowak, Zakład Farmakologii, Uniwersytet Medyczny, ul. Muszyńskiego 1, 90-151 Łódź, e-mail: jznnowak@farm.pharm.am.lodz.pl

* Praca wykonana w ramach działalności statutowej ZAB PAN w likwidacji i grantu UM w Łodzi nr 502-11-03.



Full_text PDF:	http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_58/4826.pdf
Word count:	6614
Tables:	1
Figures:	3
References:	78

Peptyd histydyno-izoleucynowy (PHI) pierwotnie zidentyfikowany u świni [62-64] i jego ludzki analog - peptyd histydyno-metioninowy (PHM) [65] należą do struktury

PACAP 38	HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYLAAVLGK RYKQRVKKNK
PACAP 27	HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYLAAVL
VIP	HSDAVFTDNYTRLRKQMAVKKYLNSILN
SEKRETYNA	HSDGFTSELSRLREGARLQRLQLGLV
GHRH	YDAIFTNSYSKVLGQLSARKLLQDIMSRQQGESNQ ERGARARL
HELODERMINA	HSDAIFTEEYSKLLAKLALQKYLASILGSRTSPPP
GLUKAGON	HSQGFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNT
GLP-2	HADGSFSDEMNTILDNLAARDFINWLIQTKITD
PRP	DVAHGILNEAYRKVLDQLSAGKHLQSLVA
GIP	YAEGTFISDIAMDKHIQDFVNWLLAQKGGKND WKHNITQ

Ryc. 1. Sekwencje aminokwasowe przedstawicieli rodziny sekretyna-glukagon-GHRH-VIP-PACAP u człowieka

ralnie zbliżonej rodziny peptydów obejmującej, poza wymienionymi, wiele innych polipeptydów, takich jak np.: peptyd aktywujący przysadkową cyklazę adenylnową (PACAP), naczyniowoaktywny peptyd jelitowy (VIP), sekretynę, glukagon, hormon uwalniający hormon wzrostu (GHRH) i heloderminę (ryc.1).

PHI i PHM są peptydami zbudowanymi z 27 aminokwasów. N-końcowym aminokwasem łańcucha jest histydyna, a C-końcowym izoleucyna (PHI) lub metionina (PHM). Sekwencja peptydów wykazuje 48% podobieństwa do sekwencji VIP. Na uwagę zasługuje to, że podobieństwo dotyczy głównie C-końcowego odcinka łańcucha aminokwasowego, ważnego z punktu widzenia biologicznej funkcji PHI i PHM [32]. Analiza porównawcza sekwencji PHI i GHRH wykazała, że w pozycjach 2, 3, 6, 7, 14-18, 21 i 23 mają one identyczne aminokwasy. Podobieństwo PHM do GHRH okazało się jeszcze większe, ponieważ poza wymienionymi, PHM ma jeszcze dwa inne aminokwasy wspólne z GHRH. Znajdują się one w pozycjach 12 i 27 [33]. Peptyd histydyno-izoleucynowy wydaje się dość konserwatywny, jeśli porównujemy jego sekwencje aminokwasowe u różnych gatunków kręgowców poczy-

nając od ryb a na ssakach skończywszy. Zidentyfikowane do tej pory peptydy różnią się w co najwyżej 6 pozycjach aminokwasowych w strukturze pierwszorzędowej. Szczurzy PHI [49] różni się od postaci

a)

Szczur	HADGVFTSDYSRLLGQISAKKYLESLI
Krowa	HADGVFTSDYSRLLGQLSAKKYLESLI
Świnia	HADGVFTSDFSRLLGQLSAKKYLESLI
Człowiek	HADGVFTSDFSKLLGQLSAKKYLESLM
Złota rybka	HADGLFTSGYSKLLGQLSAKEYLESLL

b)

Złota rybka	HADGLFTSGYSKLLGQLSAKEYLESLL
Kurczak	HADGIFTSVYSHLLAKLAVKRYLHSLI
Indyk	HADGIFTTVYSHLLAKLAVKRYLHSLI

Ryc. 2. Porównanie sekwencji aminokwasowych peptydu histydyno-izoleucynowego (PHI): (a) ssaków i ryb oraz (b) ptaków i ryb; wytłuszczonym drukiem zaznaczono różnice w aminokwasach

bydłęcej [11], świńskiej [62-63], ludzkiej (PHM) [33, 64] i złotej rybki [66] odpowiednio 1, 2, 4 i 6 aminokwasami w sekwencji (ryc. 2a).

Interesujące jest to, że sekwencja aminokwasowa PHI złotej rybki jest bardziej zbliżona do sekwencji aminokwasowych ssaczy PHI/PHM (74-78% identyczności) niż PHI ptaków (59% identyczności) (ryc. 2b).

Na uwagę zasługuje to, że PHI powstaje z tego samego prekursora co VIP. Sekwencja prekursora VIP zawiera bowiem sekwencję PHI, co wskazuje, że obydwa te peptydy są kodowane przez ten sam gen. Sekwencja prekursora PHI i VIP została poznana u człowieka [8, 33], szczura [49], myszy [39], kurczęcia [43], indyka [75] i złotej rybki [66]. U kurcząt i indyków przeważającą postacią prekursora VIP jest postać niemająca w swej sekwencji PHI (98%). Dłuższa postać prekursora VIP z sekwencją PHI jest obecna u tych gatunków, ale w niewielkiej ilości (2%). Przypuszcza się, że ptasie PHI nie odgrywają istotnej roli fizjologicznej i dlatego wszelkie mutacje w ich obrębie pojawiające się w toku ewolucji utrzymały się, a sekwencje ptasich PHI odbiegają od sekwencji pozostałych PHI [66].

Prekursor VIP może być także źródłem peptydu zbudowanego z 42 aminokwasów, który jest przedłużoną

Człowiek	HADGVFTSDFSKLLGQLSAKKYLESLMGKRVSSNISED PVPV
Szczur	HADGVFTSDYSRLLGQISAKKYLESLIGKR ISS SISED PVPV
Świnia	HADGVFTSDFSRLLGQLSAKKYLESLIGKRVSN GISED QGPA
Mysz	HADGVFTSDYSRLLGQISAKKYLESLIGKR ISS SISED PVPV
Kurczak	HADGIFTSVYSHLLAKLAVKRYLHSLIRKRVSSQDS - - - - P V
Indyk	HADGIFTTVYSHLLAKLAVKRYLHSLIRKRVSSQDS - - - - P V

Ryc. 3. Sekwencja aminokwasowa peptydu histydyno-walinowego (PHV) u ssaków i ptaków; na szarym tle umieszczono aminokwasy zajmujące pozycje 28–42; wytłuszczonym drukiem zaznaczono różnice w aminokwasach

postacią PHI/PHM; nazwano go peptydem histydyno-walinowym (PHV) [20, 73] (ryc. 3). Peptyd ten na N-końcu łańcucha aminokwasowego zawiera histydyne, a na C-końcu u większości gatunków jest walina. Wyjątkami są: postać świńska, gdzie C-końcowym aminokwasem jest alanina i mysia z C-końcową izoleucyną. Sekwencja aminokwasowa odcinka 28-42 świńskiej postaci PHV (PHI-42) różni się w 5 pozycjach od ludzkiej i w 6 od szczurzej, podczas gdy te dwie ostatnie różnią się między sobą jedynie w 2 pozycjach aminokwasowych. Ponadto wykazano, że odcinki C-końcowe peptydów kurczęcia i indyka są identyczne, ale są krótsze o 4 aminokwasy od postaci ssaczy [20].

LOKALIZACJA

PHI wykazuje podobną dystrybucję tkankowo-narządową do VIP [16]. Obecny jest w różnych rejonach mózgu, między innymi w korze mózgowej [44], przysadce mózgowej [14], płatach skroniowych, hipokampie, prążkowiu, podwzgórz [12] i jądrach nadskrzyżowaniowych podwzgórza [19, 44]. Stosując technikę immunofluorescencji zaobserwowano także bardzo gęstą sieć włókien nerwowych wykazujących ekspresję PHI w warstwie zewnętrznej wyniosłości pośrodkowej, tj. w miejscu, z którego najprawdopodobniej są uwalniane hormony wpływające na aktywność przysadki mózgowej. Zakończenia nerwowe zawierające PHI są zgrupowane wokół naczyń krwionośnych układu wrotnego, co niewątpliwie sprzyja transportowi tego peptydu do przedniego płata przysadki mózgowej, z której jest uwalniana prolaktyna [32]. Omawiany peptyd występuje również w górnych drogach oddechowych. Metodami immunocytochemii wykazano jego obecność między innymi w ekstraktach tchawicy oraz komórkach zwojowych i włóknach komórek nerwowych dróg oddechowych

świnki morskiej, szczura i kota [17]. Stosując z kolei testy radioimmunologiczne obecność PHI udało się wykazać w liofilizowanych preparatach tchawicy, oskrzeli i płuc szczura [34]. Ponadto obecność PHI stwierdzono w jelicie cienkim [13], trzustce [71], rdzeniu przedłużonym, nadnerczach, rogach macicy i w żołądku [14]. Wykazano, iż w zależności od postaci w jakiej występuje ten peptyd jego rozmieszczenie w organizmie jest różne [12, 14]. Na przykład, klasyczna postać, tj. PHI-(1-27)-NH₂ występuje obficie w rdzeniu przedłużonym i prążkowiu, a w nieco mniejszych ilościach w żołądku, podwzgórz, płatach skroniowych i rogach macicy. Peptyd PHI-(1-27)-Gly jest obecny głównie w jelicie cienkim, a w odpowiednio mniejszych ilościach także w żołądku oraz w rdzeniu przedłużonym, płatach skroniowych, hipokampie i rogach macicy. Natomiast przedłużona postać PHI, czyli peptyd histydyno-walinowy-(1-42) (PHV) jest obecny w przysadce mózgowej, płatach skroniowych, hipokampie, prążkowiu, podwzgórz, nadnerczach oraz w rogach macicy. Badania z innych laboratoriów wykazały, że duże ilości PHV występują w jelicie cienkim [10], śluzówce nosa, żołądku [73] i genitaliach [51, 73]. Jest to także postać, która przeważa nad innymi (PHM, VIP) we krwi obwodowej u ludzi zdrowych oraz pacjentów z guzem wytwarzającym VIP, który w obrazie klinicznym charakteryzuje się silnymi biegunkami wodnymi, hipopotasemią i bezkwasowością soku żołądkowego [73].

PHM, analogicznie do PHI, występuje w układzie pokarmowym [9, 21, 55, 71], układzie oddechowym [28, 55], mózgu [56] i w układzie moczowo-płciowym kobiet [52-53] oraz mężczyzn [51, 72].



Tabela 1. Klasyfikacja receptorów dla PACAP i VIP

Nowe nazwy receptora	PAC ₁				VPAC ₁	VPAC ₂
Stare nazwy receptora	PACAP typu I, PACAP, PVR ₁				PACAP typu II, VIP ₁ /PACAP, PVR ₂ , VIP, VIP ₁	PACAP ₃ , VIP ₂ /PACAP, PVR ₃ , VIP ₂
Locus genu w chromosomie ludzkim	7p14				3p22	7q36.3
Selektywni agoniści	maxadilan				[Arg ¹⁶]sekretyna kurcząca [K ¹⁵ R ¹⁶ L ²⁷]VIP(1-7) GRF(8-27)-NH ₂	Ro 25-1553 Ro 25-1392
Selektywni antagoniści	PACAP ₆₋₃₈ PACAP ₆₋₂₇ M65				[Ac-His ¹ , p-Phe ² , Lys ¹⁵ , Arg ¹⁶] VIP(3-7) GRF(8-27)-NH ₂ VIP ₆₋₂₈	PG 99-465
Warianty	s,hop1,hop2 hip-hop1 hip-hop2	hip	vs	TM4	-	-
Wpływ na AC	+	+	+	?	+ PACAP ₃₈ , PACAP ₂₇ , VIP	+ PACAP ₃₈ , PACAP ₂₇ , VIP
Wpływ na PLC	+ PACAP ₃₈ PACAP ₂₇ VIP	?	+ PACAP ₃₈ PACAP ₂₇ VIP	?	?	?

PACAP – peptyd aktywujący przysadkową cyklazę adenylnową (PACAP₃₈ - postać długa; PACAP₂₇ - postać krótka)

VIP – naczyniowoaktywny peptyd jelitowy

GRF – czynnik uwalniający hormon wzrostu (nazwa synonimiczna: GHRH - hormon uwalniający hormon wzrostu)

Maxadilan - CDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTATFTSMDTSQLPGNSVFKCEMKKQKKEFKFA (aminokwasy homologiczne do PACAP i VIP zaznaczono wytłuszczonym drukiem)

M65 – skrócona postać maxadilanu (25-41)

Ro 25-1392: Ac-His¹[Glu⁸, OCH₃-Tyr¹⁰, Lys¹², Le¹⁷, Ala¹⁹, Asp²⁵, Leu²⁶, Lys^{27,28}] VIP (cyclo 21-25)

Ro 25-1553: Ac-His¹[Glu⁸, Lys¹², Le¹⁷, Ala¹⁹, Asp²⁵, Leu²⁶, Lys^{27,28}, Gly^{29,30}, Thr³¹]-NH₂ VIP (cyclo 21-25)

PG 99-465: Myr-HSDAVFTDNYTKLRQMAVKKYLNSIKKGGT

RECEPTORY

Dane literaturowe wskazują, że PHI wykazuje pewne powinowactwo do receptorów wspólnych dla VIP i PACAP, tj. receptorów VPAC₁ i VPAC₂. Oddziaływanie PHI z receptorami swoistymi dla PACAP, tj. receptorami PAC₁, wydaje się niewielkie. Tabela 1 zawiera charakterystykę receptorów PAC₁, VPAC₁ i VPAC₂.

Wymienione receptory należą do nadrodziny receptorów sprzężonych z białkami G (G-protein-coupled receptors; GPCR). Ich głównym układem efektoro-

wym jest system: cyklaza adenylnowa (AC)→cAMP. Receptory PAC₁ i VPAC₁ (ale nie VPAC₂) aktywują ponadto tor przemian: fosfolipaza C (PLC)→IP₃/DAG [5, 68]. Według najnowszych danych obydwa podtypy receptora VPAC mogą uruchamiać we wnętrzu komórki także system sygnalizacyjny: fosfolipaza D (PLD)→kwas fosfatydowy [42].

Spośród dwóch podtypów receptorów VPAC receptor VPAC₂ charakteryzuje się dużym (w porównaniu do receptora VPAC₁) powinowactwem do heloderminy, stąd jego alternatywna (choć rzadziej używana) nazwa “the type II-binding site helodermin-preferring VIP receptor”.

Receptory PAC₁ stanowią niejednorodną pulę receptorów [5, 50, 68]. Wyróżnia się 8 wariantów receptorowych: sPAC₁ (krótki; brak kasyety 28 reszt aminokwasowych w trzeciej części wewnątrzkomórkowej białka receptorowego; ic3), PAC₁-hip, PAC₁-hop1, PAC₁-hop2, PAC₁-hip/hop1, PAC₁-hip/hop2 (warianty hip/hop zawierają w ic3 dodatkową kasetę 28 reszt aminokwasowych nazywaną "hip" lub "hop"), vsPAC₁ (bardzo krótki; delecja odcinka 21 reszt aminokwasowych w obszarze N-końca). Obecność kasyety "hip" w receptorze PAC₁ osłabia tworzenie cAMP i uniemożliwia aktywację toru przemian: PLC→IP₃/DAG, wskazując na istotną jej rolę w mechanizmie generacji wtórnych przekaźników informacji (cAMP, IP₃, DAG). Oprócz wymienionych receptorów istnieje ponadto receptor określany jako PAC₁-R-TM4 (w segmencie transbłonowym 4 występują dwie substytucje i dwie delekcje reszt aminokwasowych), którego stymulacja nie aktywuje torów sygnalizacyjnych AC→cAMP czy PLC→IP₃/DAG. Jednakże, stymulacja tego receptora przez PACAP (ale nie VIP) aktywuje kanały wapniowe typu L, powodując wzrost stężenia jonów Ca²⁺ we wnętrzu komórki ([Ca²⁺]_i) [15].

Scharakteryzowane farmakologicznie i molekularnie receptory PAC₁ (jak wspomniano wcześniej są to receptory swoiste dla PACAP), oraz VPAC₁ i VPAC₂ (receptory wspólne dla PACAP i VIP) nie wydają się wyczerpywać listy receptorów, poprzez które VIP i PACAP realizują swoje różnorodne działania biologiczne. Najnowsze prace donoszą o zidentyfikowaniu np. u żaby nowego wariantu receptora PAC₁, wykazującego zróżnicowaną dystrybucję tkankowo-narządową i zdolność do aktywowania układu generującego cAMP [2].

Wiele danych literaturowych wskazuje, że powyższe receptory nie są również jedynymi receptorami, poprzez które PHI/PHM mogą realizować swoje działania biologiczne. W oparciu o dane pochodzące z roku 2002 uzyskane w wyniku badań na złotej rybce sugeruje się istnienie jakościowo nowego receptora wspólnego dla PHI i jego postaci przedłużonej - peptydu histydyno-walinowego (PHV), wrażliwego w mniejszym stopniu na VIP i zupełnie niewrażliwego na PACAP (oceną wrażliwości był test "cAMP"; [66]). Ekspresję genu dla tego receptora stwierdzono przede wszystkim w przysadce, a ponadto niewielką w jelicie i pęcherzyku żółciowym. Pewne dane wskazują również na istnienie receptora swoistego dla PHI sprzężonego ze szlakiem sygnalizacyjnym kinazy MAP [40].

Wcześniejsze badania wykonane na mózgu szczura (pierwsza połowa lat 90 ub. w. [29-30]) ujawniły istnienie receptorów dla VIP zależnych i niezależnych od GTP. Receptory zależne od GTP reprezentują

wspomniane receptory typu VPAC, natomiast receptory niezależne od GTP stanowią najprawdopodobniej nową klasę receptorów dla VIP i PACAP. Dalsze badania wykazały, że te niezależne od GTP receptory dla VIP łączyły się swoiście z analogiem VIP, tj. stearylo-norLeu¹⁷-VIP [31], związkami, który – w przeciwieństwie do VIP – nie miał zdolności aktywacji toru sygnalizacyjnego AC→cAMP [24]. Zainteresowanie tym analogiem VIP i jego mechanizmem działania stawało się bardzo interesujące z powodu jego prawie 100 razy silniejszego niż VIP działania stymulującego wzrost i rozwój embrionalny badanych ssaków (myszy, szczury [24]). Prace z ostatnich kilku lat pochodzące z renomowanych laboratoriów, kierowanych m.in. przez I. Gozes (Tel-Aviv University) i D.E. Brennemana (NIH, Bethesda), czy P. Gressens (INSERM, Paris) sugerują, że właściwości neurotroficzne VIP mogą wynikać z aktywacji receptorów dla VIP niewrażliwych na GTP i uruchamiających tor/y sygnalizacyjny/e niezależny/e od cAMP [22, 27, 29, 31, 47, 59]. Za możliwością udziału tego typu receptora w procesach wzrostu i różnicowania komórek i tkanek przemawia także stwierdzona ekspresja tego typu receptorów we wczesnych stadiach rozwoju embrionalnego szczura (E9,5) [26, 29].

Występowanie receptorów dla VIP niewrażliwych na nukleotydy guanylowe wykazano także w wątrobie 4-dniowych kurcząt [54]. Receptory te rozpoznawały, oprócz VIP i PACAP, także peptyd histydyno-izoleucynowy (PHI). W preinkubowanym w obecności Gpp(NH)p preparacie błonowym wątroby, niezależne od GTP miejsca wiążące [¹²⁵I]VIP (Mr = 48 kDa) wykazywały 17 razy większe powinowactwo do PHI niż w preparacie kontrolnym, tj. nietraktowanym Gpp(NH)p [54]. Jeśli te opisane przez Pineau i współpracowników niezależne od GTP receptory u kurcząt są ptasim (kurzym) analogiem podobnych receptorów występujących u ssaków [29-31] – a wiele danych wskazuje, że tak jest - to receptor ptasi może się okazać bardzo przydatnym i stosunkowo tanim systemem modelowym do badania właściwości molekularnych, biochemicznych i funkcjonalnych tego typu receptora, szczególnie jego roli w rozwoju embrionalnym.

Badania radioreceptorowe wykonane w naszym zespole wykazały w preparacie błonowym kory mózgowej kurcząt obecność receptorów o dużym powinowactwie zarówno do PACAP (typu PAC₁), jak i do VIP (typu VPAC) [77-78]. Swoiste wiązanie [¹²⁵I]VIP było hamowane przez PACAP27, PACAP38, VIP, a także PHI. Wśród znakowanych [¹²⁵I]VIP-em receptorów stwierdziliśmy ponadto miejsca wiążące radioligand podlegające regulacji ze strony GTP i niezależne od tego nukleotydu. Wyniki te sugerują, że te receptory



są podobne, jeśli nie identyczne do receptorów zidentyfikowanych w wątrobie kurcząt i jednocześnie różne od receptorów VPAC [78].

FUNKCJA

PHI i PHM są obecne w wielu tkankach ssaków (przewód pokarmowy, układ nerwowy, drogi oddechowe, układ rozrodczy) [16], ale ich rola nie jest ostatecznie wyjaśniona. Wydaje się, że PHI ma wiele działań biologicznych podobnych do VIP i PACAP w różnorodnych tkankach [32, 38, 40, 66]. Prawdopodobnie może pełnić funkcję neuroprzekaźnika czy neuromodulatora ośrodkowego układu nerwowego [62]. Dane doświadczalne wskazują, że peptyd ten powoduje, np. uwalnianie prolaktyny z przysadki mózgowej [67]. Z innych źródeł wiadomo, że stymuluje on aktywność N-acetylotransferazy serotoninowej, a tym samym wzmacnia syntezę melatoniny w szyszynce [46, 76]. To, że PHI podlega ekspresji w siatkówce i jądrach nadskrzyżowaniowych podwzgórza sugeruje z kolei jego udział w regulowaniu rytmów okołodobowych [19].

Ponadto PHI reguluje wydzielanie insuliny i glukozy z trzustki [1, 6, 61]. Wpływa na transport wody i elektrolitów w jelicie [3, 4, 45]. Działa hamująco na absorpcję wody, sodu, potasu i dwuwęglanu w jelicie czczym człowieka [45]. Powoduje rozluźnianie mięśni gładkich. Działanie takie wykazano między innymi w przypadku tchawicy [17, 41], pęcherzyka żółciowego i dna żołądka [18] oraz jajowodów [53]. PHI ponadto działa rozszerzająco na naczynia krwionośne, zwiększając tym samym przepływ krwi [60].

Interesującą wydaje się obserwacja, że peptyd ten ma potencjał troficzny [35, 37, 57-58, 65-66]. W ostatnim okresie szczególnie intensywne badania koncentrują się na tych właśnie właściwościach PHI ze względu na ewentualną możliwość zastosowania tego peptydu jako czynnika terapeutycznego w chorobach związanych z degeneracją i śmiercią neuronów. Z medycznego punktu widzenia może się okazać ważne i to, że PHI hamuje proliferację mysich komórek neuroblastoma [40].

Zaobserwowano ponadto, że PHI może hamować wiązanie VIP do jego receptorów, co sugeruje, że ten typ receptorów może pośredniczyć w działaniach biologicznych PHI. Hamowanie wiązania [¹²⁵I]VIP zaobserwowano w preparatach błonowych wątroby szczura [7], nabłonka jelitowego szczura i człowieka [7, 38] oraz w trzustce świnki morskiej [36]. Sprawdzając, czy to działanie będzie miało związek z funkcjami biologicznymi PHI, tj. np. na układ generujący cAMP, stwierdzono, że PHI jest również silnym stymulatorem

wytwarzania cAMP w preparacie błonowym wątroby i izolowanych komórkach nabłonka jelitowego (siła z jaką działał PHI stanowiła 30-40% siły VIP, natomiast skuteczność obu peptydów była identyczna) [7]. W działaniach PHI zaobserwowano różnice gatunkowe. Hamowanie wiązania VIP było silniejsze w przypadku preparatu błonowego nabłonka jelitowego szczura niż człowieka. Podobnie, PHI silniej stymulował wytwarzanie cAMP u szczura niż u człowieka [38].

PHI wykazuje też niewielkie powinowactwo do receptorów dla sekretyny (20-25 razy mniejsze niż do receptorów dla VIP) [7]. W gruczołach żołądkowych, gdzie system AC→cAMP jest zależny przede wszystkim od działania sekretyny, PHI wywiera silniejsze działanie stymulujące wytwarzanie cAMP niż VIP (3-10 razy), ale wyraźnie słabsze w porównaniu z działaniem sekretyny (2-3%) [7]. W komórkach tucznych, zawierających receptory zarówno dla VIP, jak i sekretyny, siła działania PHI na syntezę cAMP stanowiła 10-15% siły pozostałych dwóch peptydów [7]. PHI jest niemal tak samo aktywny w badaniach *in vitro* jak VIP. PHI zastosowany w stężeniu jedynie 2,5 - 5 razy większym od stężenia VIP działał tak samo jak VIP [7].

Z dostępnych danych literaturowych wynika, że działania PHM w różnych układach są zbliżone do działań PHI. Jeśli chodzi o układ nerwowy, PHM uczestniczy w regulacji procesu uwalniania prolaktyny z przysadki mózgowej [48, 55-56]. W układzie rozrodczym PHM powoduje rozluźnienie mięśni gładkich [25, 53, 74]. Podobne działanie relaksacyjne wywiera w układzie pokarmowym, oddechowym [74] i krwionośnym [69]. Ponadto, przypuszcza się, że PHM może odgrywać rolę u ludzi z guzami wydzielającymi VIP i syndromem wodnistych biegunek. Stosując metody immunocytochemiczne wykazano obecność PHM w próbkach krwi i guzie pacjentów z tą jednostką chorobową. Wszystkie badane osoby miały bardzo podwyższone stężenie PHM we krwi (średnio - 1800 pmol/l; zakres - 500-6800 pmol/l; stężenie prawidłowe - 12 pmol/l) i, co ciekawe stężenie to było większe niż w przypadku VIP (średnio - 235 pmol/l; zakres - 50-580 pmol/l). U pacjentów z innymi guzami trzustki, stężenie PHM we krwi różniło się tylko nieznacznie od prawidłowego (średnio - 20 pmol/l; zakres - 5-60 pmol/l; stężenie prawidłowe - 28 pmol/l). W próbkach krwi pochodzących od pacjentów z biegunką wywołaną innymi chorobami również nie stwierdzono znacząco podwyższonego stężenia PHM (średnio - 40 pmol/l; zakres - 10-80 pmol/l; stężenie prawidłowe - 23 pmol/l) [74].

Pomiar immunoreaktywności PHM, somatostatyny oraz VIP w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów z otępieniem starczym typu Alzheimer'a - SDAT (senile

dementia of the Alzheimer type) i osób zdrowych wykazał statystycznie znamiennej redukcję poziomu PHM i somatostatyny w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów z SDAT w porównaniu do osób zdrowych. Nie zaobserwowano takiej różnicy w przypadku VIP. Powyższe wyniki sugerują, że u osób z SDAT może wystąpić selektywna degeneracja neuronów zawierających somatostatynę i PHM lub też zmiana w metabolizmie PHM [70]. Można więc przypuszczać, że u zdrowych ludzi PHM pełni ważne fizjologiczne funkcje, a obniżony poziom peptydu spowodowany chorobami może dodatkowo przyczyniać się do osłabienia sprawności organizmu.

Przedłużona postać PHI/PHM, tj. PHV, najprawdopodobniej działa podobnie biologicznie, jak te pierwsze. Z nielicznych danych na ten temat wynika, że peptyd ten może być ważnym modulatorem układu krążenia. Przemawia za tym duże stężenie PHV we krwi, jego długi okres półtrwania w porównaniu z PHM i działanie przyspieszające akcję serca [23]. Stwierdzono ponadto, że syntetyczna postać PHV powoduje zmniejszenie siły i częstości spontanicznych skurczów wyizolowanej macicy szczura. Dodatkowo zaobserwowano, że działanie to jest znacznie silniejsze niż w przypadku PHM. Siła działania PHV w porów-

naniu z siłą działania PHM jest również większa jeżeli porównuje się proces rozluźniania się mięśni gładkich szczyrzego żołądka i tchawicy świnki morskiej pod wpływem wyżej wymienionych peptydów [73].

PODSUMOWANIE I PERSPEKTYWY

PHI i PHM, oraz ich przedłużona do 42 aminokwasów postać PHV, wydają się istotnymi z punktu widzenia funkcji biologicznej peptydami rodziny obejmującej wiele innych polipeptydów, m.in.: sekretynę, VIP i PACAP. Przemawia za tym ich konserwatywność w budowie, występowanie w obrębie całego organizmu i ich swoiste działanie zależne od umiejscowienia receptorów. Obserwowane zmiany stężenia tych peptydów w różnych jednostkach chorobowych u ludzi, mogą okazać się ważne i przydatne z punktu widzenia diagnostyki. Z kolei postulowane właściwości neurotroficzne i neuroprotektoryjne PHI stwarzają wiele możliwości terapeutycznych. Zaawansowane badania nad potencjałem neuroprotektoryjnym i neurotroficznym PACAP i VIP sugerują, że te peptydy, oraz strukturalnie zbliżony PHI/PHM, a także ich analogii (np. PHV), mogą wytyczyć nową strategię w terapii schorzeń neurodegeneracyjnych, m. in. w chorobie Parkinsona i Alzheimerera.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Ahren B., Lundquist I.: Effects of peptide HI on basal and stimulated insulin and glucagon secretion in the mouse. *Neuropeptides* 1988, 11, 159-162.
- [2] Alexandre D., Vaudry H., Grumolato L., Turquier V., Fournier A., Jegou S., Anouar Y.: Novel splice variants of adenylate cyclase stimulation and differential relative abundance. *Endocrinology* 2002, 143, 2680-2692.
- [3] Anagnostides A.A., Manolas K., Christofides N.D., Yiangou Y., Welbourn R.B., Bloom S.R., Chadwick V.S.: Peptide histidine isoleucine (PHI). A secretagogue in porcine intestine. *Dig. Dis. Sci.* 1983, 28, 893-896.
- [4] Anagnostides A.A., Christofides N.D., Tatemoto K., Yiangou Y., Chadwick V.S., Bloom S.R.: Peptide histidine isoleucine: a secretagogue in human jejunum. *Gut* 1984, 25, 381-385.
- [5] Arimura A.: Perspectives on pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) in the neuroendocrine, endocrine and nervous system. *Jpn. J. Physiol.* 1998, 48, 301-331.
- [6] Bailey C.J., Wilkes L.C., Conlon J.M., Armstrong P.H., Buchanan K.D.: Effects of gastric inhibitory polypeptide, vasoactive intestinal polypeptide and peptide histidine isoleucine on the secretion of hormones by isolated mouse pancreatic islets. *J. Endocrinol.* 1990, 125, 375-379.
- [7] Bataille D., Gespach C., Laburthe M., Amiranoff B., Tatemoto K., Vauclin N., Mutt V., Rosselin G.: Porcine peptide having N-terminal histidine and C-terminal isoleucine amide (PHI). *FEBS Lett.* 1980, 114, 240-242.
- [8] Bodner M., Fridkin M., Gozes I.: Coding sequences for vasoactive intestinal peptide and PHM-27 peptide are located on two adjacent exons in the human genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1985, 82, 3548-3551.
- [9] Bredkjaer H.E., Wulff B.S., Emson P.C., Fahrenkrug J.: Location of PHM/VIP mRNA in human gastrointestinal tract detected by in situ hybridization. *Cell. Tissue Res.* 1994, 276, 229-238.
- [10] Buhl T., Nilsson C., Ekblad E., Johnsen A.H., Fahrenkrug J.: Expression of prepro-VIP derived peptides in the gastrointestinal tract of normal, hypothyroid and hyperthyroid rats. *Neuropeptides* 1996, 30, 237-247.
- [11] Carlquist M., Kaiser R., Tatemoto K., Jörnvall H., Mutt V.: A novel form of the polypeptide PHI isolated in high yield from bovine upper intestine. *Eur. J. Biochem.* 1984, 144, 243-247.
- [12] Cauvin A., De Neef P., Bastianelli E., Robberecht P., Christophe J.: Variable distribution, in four rat brain areas, of three natural forms of peptide histidine isoleucine: PHI(1-27)NH₂, PHI-Gly, and PHV(1-42). *Neuroendocrinology* 1991, 53, 190-193.
- [13] Cauvin A., Vandermeers A., Vandermeers-Piret M.C., Rathe J., Robberecht P., Christophe J.: Peptide histidine isoleucineamide (PHI)-(1-27)-Gly as new major form of PHI in the rat small intestine. *Endocrinology* 1989, 125, 1296-1302.
- [14] Cauvin A., Vandermeers A., Vandermeers-Piret M.C., Robberecht P., Christophe J.: Variable distribution of three molecular forms of peptide histidine isoleucineamide in rat tissues: identification of the large molecular form as peptide histidine valine-(1-42). *Endocrinology* 1989, 125, 2645-2655.
- [15] Chatterjee T.K., Sharma R.V., Fisher R.A.: Molecular cloning of a novel variant of the pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) receptor that stimulates calcium influx by activation of L-type calcium channels. *J. Biol. Chem.* 1996, 271, 32226-32232.
- [16] Christofides N.D., Polak J.M., Bloom S.R.: Studies on the distribution of PHI in mammals. *Peptides* 1984, 5, 261-266.
- [17] Christofides N.D., Yiangou Y., Piper P.J., Ghatei M.A., Sheppard M.N., Tatemoto K., Polak J.M., Bloom S.R.: Distribution of peptide histidine isoleucine in the mammalian respiratory tract and some aspects of its pharmacology. *Endocrinology* 1984, 115, 1958-1963.
- [18] Currò D., De Marco T., Preziosi P.: Involvement of peptide histidine isoleucine in non-adrenergic non-cholinergic relaxation of the rat gastric fundus induced by high-frequency neuronal firing. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 2002, 366, 578-586.



- [19] Denis P., Dussailant M., Nordmann J.P., Berod A., Saraux H., Rostene W.: Vasoactive intestinal peptide/peptide histidine isoleucine mRNA in the eye and suprachiasmatic nucleus of normal and monocularly enucleated rats. *Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 1993, 231, 541-545.
- [20] Eriste E., Norberg A., Bonetto V., Nepomuceno D., Lovenberg T.W., Sillard R., Jörnvall H.: A C-terminally elongated form of PHI from porcine intestine. *Cell. Mol. Life Sci.* 1999, 56, 709-713.
- [21] Fahrenkrug J., Pedersen J.H., Yamashita Y., Ottesen B., Hokfelt T., Lundberg J.M.: Occurrence of VIP and peptide HM in human pancreas and their influence on pancreatic endocrine secretion in man. *Regul. Pept.* 1987, 18, 51-61.
- [22] Fatatis A., Holtzclaw L.A., Avidor R., Brenneman D.E., Russel J.T.: Vasoactive intestinal peptide increases intracellular calcium in astroglia: synergism with alpha-adrenergic receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1994, 91, 2036-2040.
- [23] Gill J.S., Yangou Y., Weeb D.J., Meleagros L., Benjamin N., Chrysanthou B.J., Cocroft J.R., Causon R.C., Camm A.J., Bloom S.R.: Peptide histidine valine: its haemodynamic actions and pharmacokinetics in man differ from those of vasoactive intestinal peptide and peptide histidine methionine. *Clin. Sci.* 1990, 78, 487-492.
- [24] Gozes I., Lilling G., Glazer R., Ticher A., Ashkenazi I.E., Davidson A., Rubinraut S., Fridkin M., Brenneman D.E.: Superactive lipophilic peptides discriminate multiple vasoactive intestinal peptide receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1995, 273, 161-167.
- [25] Gras S., Ovesen P., Andersen A.N., Sorensen S., Fahrenkrug J., Ottesen B.: Vasoactive intestinal polypeptide and peptide histidine methionine. Presence in human follicular fluid and effects on DNA synthesis and steroid secretion in cultured human granulosa/lutein cells. *Hum. Reprod.* 1994, 9, 1053-1057.
- [26] Gressens P., Hill J.M., Gozes I., Fridkin M., Brenneman D.E.: Growth factor function of vasoactive intestinal peptide in whole cultured mouse embryos. *Nature* 1993, 362, 155-158.
- [27] Gressens P., Marret S., Hill J.M., Brenneman D.E., Gozes I., Fridkin M., Evrard P.: Vasoactive intestinal peptide prevents excitotoxic cell death in the murine developing brain. *J. Clin. Invest.* 1997, 100, 390-397.
- [28] Hauser-Kronberger C., Albegger K., Saria A., Hacker G.W.: Regulatory peptides in the human larynx and recurrent nerves. *Acta Otorinol.* 1993, 113, 409-413.
- [29] Hill J.M., Agoston D., Gressens P., McCune S.K.: Distribution of VIP mRNA and two distinct VIP binding sites in the developing rat brain: relation to ontogenetic events. *J. Comp. Neurol.* 1994, 342, 186-205.
- [30] Hill J.M., Harris A., Hilton-Clarke D.I.: Regional distribution of guanine nucleotide-sensitive and guanine nucleotide-insensitive vasoactive intestinal peptide receptors in rat brain. *Neuroscience* 1992, 48, 925-932.
- [31] Hill J.M., Lee S.J., Dibbern D.A., Fridkin M., Gozes I., Brenneman D.E.: Pharmacologically distinct vasoactive intestinal peptide binding sites: CNS localization and role in embryonic growth. *Neuroscience* 1999, 93, 783-791.
- [32] Hökfelt T., Fahrenkrug J., Tatemoto K., Mutt V., Werner S.: PHI, a VIP-like peptide, is present in the rat median eminence. *Acta Physiol. Scand.* 1982, 116, 469-471.
- [33] Itoh N., Obata K.-I., Yanaihara N., Okamoto H.: Human preprovasoactive intestinal polypeptide contains a novel PHI-27-like peptide, PHM-27. *Nature* 1983, 304, 547-549.
- [34] Ishizuka T., Kurosawa M.: Basic study of peptide histidine isoleucine (PHI) immunoreactivity in the respiratory tract. *Arerugi.* 1990, 39, 577-586.
- [35] Iwasaki Y., Ikeda K., Ichikawa Y., Igarashi O.: Vasoactive intestinal peptide influences neurite outgrowth in cultured rat spinal cord neurons. *Neurol. Res.* 2001, 23, 851-854.
- [36] Jensen R.T., Tatemoto K., Mutt V., Lemp G.F., Gardner J.D.: Actions of a newly isolated intestinal peptide PHI on pancreatic acini. *Am. J. Physiol.* 1981, 241, G498-502.
- [37] Kaji H., Chihara K., Abe H., Minamitani N., Kodama H., Kita T., Fujita T., Tatemoto K.: Stimulatory effect of peptide histidine isoleucine amide 1-27 on prolactin release in the rat. *Life Sci.* 1984, 35, 641-647.
- [38] Laburthe M., Amiranoff B., Boige N., Rouyer-Fessard C., Tatemoto K., Moroder L.: Interaction of GRF with VIP receptors and stimulation of adenylate cyclase in rat and human intestinal epithelial membranes. *FEBS Lett.* 1983, 159, 89-92.
- [39] Lamperti E.D., Rosen K.M., Villa-Komaroff L.: Characterization of the gene and messages for vasoactive intestinal polypeptide (VIP) in rat and mouse. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 1991, 9, 217-231.
- [40] Lelievre V., Meunier A.-C., Caigneaux E., Falcon J., Muller J.-M.: Differential expression and function of PACAP and VIP receptors in four human colonic adenocarcinoma cell lines. *Cell. Signal.* 1998, 10, 13-26.
- [41] Lundberg J.M., Fahrenkrug J., Hokfelt T., Martling C.R., Larsson O., Tatemoto K., Anggard A.: Co-existence of peptide HI (PHI) and VIP in nerves regulating blood flow and bronchial smooth muscle tone in various mammals including man. *Peptides* 1984, 5, 593-606.
- [42] McCulloch D.A., Lutz E.M., Johnson M.S., Robertson D.N., MacKenzie C.J., Holland P.J., Mitchell R.: ADP-ribosylation factor-dependent phospholipase D activation by VPAC receptors and a PAC(1) receptor splice variant. *Mol. Pharmacol.* 2001, 59, 1523-32.
- [43] McFarlin D.R., Lehn D.A., Moran S.M., MacDonald M.J., Epstein M.L.: Sequence of a cDNA encoding chicken vasoactive intestinal polypeptide (VIP). *Gene* 1995, 154, 211-213.
- [44] Mikkelsen J.D., Fahrenkrug J.: Concentrations and distribution of vasoactive intestinal peptide (VIP), peptide histidine isoleucine (PHI) and peptide histidine valine (PHV) in the cerebral cortex and the suprachiasmatic nucleus of the mouse. *Brain Res.* 1994, 656, 95-107.
- [45] Moriarty K.J., Hegarty J.E., Tatemoto K., Mutt V., Christofides N.D., Bloom S.R., Wood J.R.: Effect of peptide histidine isoleucine on water and electrolyte transport in the human jejunum. *Gut* 1984, 25, 624-628.
- [46] Moujir F., Reiter R.J., Rodriguez C., Yaga K.: Beta-adrenergic and peptide N-terminal histidine and C-terminal isoleucine of N-acetyltransferase activity and melatonin production in the cultured rat pineal gland. *Endocrinology* 1992, 130, 2076-2082.
- [47] Muller J.M., Lelievre V., Becq-giraudon L., Meunier A.C.: VIP as a cell-growth and differentiation neuromodulator role in neurodevelopment. *Mol. Neurobiol.* 1995, 10, 115-134.
- [48] Muratori M., Romano C., Gambino G., Faglia G.: Prolactin responsiveness to peptide histidine methionine-27 in normal subjects and hyperprolactinemic patients. *Horm. Res.* 1994, 42, 257-261.
- [49] Nishizawa M., Hayakawa Y., Yanaihara N., Okamoto H.: Nucleotide sequence divergence and functional constraint in VIP precursor mRNA evolution between human and rat. *FEBS Lett.* 1985, 183, 55-59.
- [50] Nowak J.Z., Zawilska J.B.: PACAP in avians: origin, occurrence, and receptors – pharmacological and functional considerations. *Curr. Pharm. Des.* 2003, 9, 467-481.
- [51] Ottesen B., Bredkjaer H.E., Ekblad E., Krause S., Miskowiak J., Fahrenkrug J.: Expression and characterization of preproVIP derived peptides in the human male urogenital tract. *Neuropeptides* 1995, 28, 227-236.
- [52] Palle C., Ottesen B., Fahrenkrug J.: Peptide histidine valine (PHV) is present and biologically active in the human female genital tract. *Regul. Pept.* 1992, 38, 101-109.
- [53] Palle C., Ottesen B., Jorgensen J., Fahrenkrug J.: Peptide histidine methionine and vasoactive intestinal peptide: occurrence and relaxant effect in the human female reproductive tract. *Biol. Reprod.* 1989, 41, 1103-1111.
- [54] Pineau N., Lelievre V., Goursaud S., Hilaret S., Waschek J.A., Janet T., Muller J.M.: The polypeptide PHI discriminates a GTP-insensitive form of VIP receptor in liver membranes. *Neuropeptides* 2001, 35, 117-126.
- [55] Sasaki A., Sato S., Go M.G., Shimizu Y., Murakami O., Hanew K., Tumita S., Andoh N., Sasano N., Yoshinaga K.: Distribution, plasma concentration, and in vivo prolactin-releasing activity of peptide histidine methionine in humans. *Clin. Endocrinol. Metab.* 1987, 65, 683-688.

- [56] Sasaki A., Sato S., Shinkawa O., Go M., Otsuka T., Sugawara A., Shimizu Y., Murakami O., Hanew K., Andoh N.: Peptide histidine methionine may be a prolactin-releasing hormone in humans. *Clin. Endocrinol. Metab.* 1988, 66, 1202-1207.
- [57] Sędkowska P., Niewiadomski P., Zawilska J.B., Nowak J.Z.: Peptydy PACAP i VIP: występowanie, receptory i rola fizjologiczna. *Post. Biol. Kom.* 2003, 30, 525-547.
- [58] Sędkowska P., Nowak J.Z.: Neuroprotekcjne właściwości peptydów PACAP i VIP w ośrodkowym układzie nerwowym. W: *Neuroprotekcja*. Mogilany 2003, red.: M. Śmiałowska. 2003 (w druku).
- [59] Spong C.Y., Lee S.J., McCune S.K., Gibney G., Abebe D.T., Alvero R., Breneman D.E., Hill J.M.: Maternal regulation of embryonic growth: the role of vasoactive intestinal peptide. *Endocrinology* 1999, 140, 917-924.
- [60] Suzuki Y., Satoh S., Lederis K., Rorstad O.: Cerebral vascular effects of peptide histidine methionine in canine and bovine species. *Pharmacology* 1991, 42, 241-245.
- [61] Szczówka J., Lins P.E., Tatemoto K., Efendic S.: Effects of porcine intestinal heptacosapeptide and vasoactive intestinal polypeptide on insulin and glucagon secretion in rats. *Endocrinology* 1983, 112, 1469-1473.
- [62] Tatemoto K., Carlquist M., McDonald T.J., Mutt V.: Isolation of a brain peptide identical to the intestinal PHI (peptide HI). *FEBS Lett.* 1983, 153, 248-252.
- [63] Tatemoto K., Mutt V.: Isolation of two novel candidate hormones using a chemical method for finding naturally occurring polypeptides. *Nature* 1980, 285, 417-418.
- [64] Tatemoto K., Mutt V.: Isolation and characterization of the intestinal peptide porcine PHI (PHI-27), a new member of the glucagon-secretin family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1981, 78, 6603-6607.
- [65] Tatemoto K., Järnvall H., McDonald T.J., Carlquist M., Go V.L.W., Johansson C., Mutt V.: Isolation and primary structure of human PHI (peptide HI). *FEBS Lett.* 1984, 174, 258-261.
- [66] Tse D.L., Pang R.T., Wong A.O., Chan S.M., Vaudry H., Chow B.K.: Identification of a potential receptor for both peptide histidine isoleucine and peptide histidine valine. *Endocrinology* 2002, 143, 1327-1336.
- [67] Werner S., Hulting A.L., Håkfelt T., Eneroth P., Tatemoto K., Mutt V., Maroder L., Wunsch E.: Effect of the peptide PHI-27 on prolactin release in vitro. *Neuroendocrinology* 1983, 37, 476-8.
- [68] Vaudry D., Gonzalez B.J., Basille M., Yon L., Fournier A., Vaudry H.: Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide and its receptors: from structure to functions. *Pharmacol. Rev.* 2001, 52, 269-324.
- [69] Yao W., Sheikh S.P., Ottesen B., Jorgensen J.C.: Vascular effects and cyclic AMP production produced by VIP, PHM, PHV, PACAP-27, PACAP-38, and NPY on rabbit ovarian artery. *Peptides* 1996, 17, 809-815.
- [70] Yasuda M., Minamitani N., Maeda K.: Peptide histidine methionine in cerebrospinal fluid of patients with senile dementia of the Alzheimer type. *Jpn. J. Psychiatry Neurol.* 1993, 47, 85-90.
- [71] Yiangou Y., Christofides N.D., Evans J.E., Bloom S.R.: The presence of peptide histidine-isoleucine in human, dog, guinea-pig and rat pancreas. *Diabetologia* 1983, 25, 125-127.
- [72] Yiangou Y., Christofides N.D., Gu J., Blank M.A., Polak J.M., Bloom S.R.: Peptide histidine-methionine (PHM) and the human male genitalia. *Neuropeptides* 1985, 6, 133-142.
- [73] Yiangou Y., Di Marzo V., Spokes R.A., Panico M., Morris H.R., Bloom S.R.: Isolation, characterization, and pharmacological actions of peptide histidine valine 42, a novel prepro-vasoactive intestinal peptide-derived peptide. *J. Biol. Chem.* 1987, 262, 14010-14013.
- [74] Yiangou Y., Williams S.J., Bishop A.E., Polak J.M., Bloom S.R.: Peptide histidine-methionine immunoreactivity in plasma and tissue from patients with vasoactive intestinal peptide-secreting tumors and watery diarrhea syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1987, 64, 131-139.
- [75] You S., Silsby J.L., Farris J., Foster D.N., El Halawani M.E.: Tissue-specific alternative splicing of turkey preprovasoactive intestinal peptide messenger ribonucleic acid, its regulation, and correlation with prolactin secretion. *Endocrinology* 1995, 136, 2602-2610.
- [76] Yuwiler A., Brammer G.L., Bennett B.L.: Commonalities in vasoactive intestinal peptide and peptide N-terminal histidine C-terminal isoleucine stimulation of N-acetyltransferase activity in the rat pineal. *J. Pineal Res.* 1993, 15, 81-87.
- [77] Zawilska J.B., Niewiadomski P., Nowak J.Z.: PAC1 receptors in chick cerebral cortex: characterization by binding of a pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide, [¹²⁵I]PACAP27. *Neurosci. Lett.* 2003, 338, 155-158.
- [78] Zawilska J.B., Niewiadomski P., Nowak J.Z.: Characterization of vasoactive intestinal peptide/pituitary adenylate cyclase activating polypeptide receptors in chick cerebral cortex. *J. Mol. Neurosci.* 2003, 19, 20, 153-161.

