

DISS.ETH NO: 21304

# Effects of PYY<sub>3-36</sub> on behavior in rodent models

A dissertation submitted to  
ETH ZURICH

for the degree of  
Doctor of Sciences

presented by

ULRIKE STADLBAUER

Mag. rer. nat., Universität Wien

Born December 25th, 1982

citizen of Austria

accepted on the recommendation of  
Prof. Dr. Wolfgang Langhans, examiner  
Dr. Urs Meyer, co-examiner  
Prof. Dr. Stephen Woods, co-examiner

2013

## Summary

The gastrointestinal hormone peptide tyrosine-tyrosine 3-36 (PYY<sub>3-36</sub>) is implicated in the control of eating. The demonstration of the eating-inhibitory effect of PYY<sub>3-36</sub> in humans led to a markedly increased interest in PYY<sub>3-36</sub> and its therapeutic potential as an anti-obesity compound. The site(s) of its action and the underlying mechanism(s) of the eating-inhibitory effect of PYY<sub>3-36</sub>, however, are still unclear.

PYY<sub>3-36</sub> appears to activate a variety of brain structures, including homeostatic regions such as the hypothalamus, but also brain regions important for reward processing, including the ventral tegmental area and ventral striatum. It is therefore well possible that administration of PYY<sub>3-36</sub> may influence biological functions and behaviors beyond its known effect on eating. A characterization of these behavioral effects of PYY<sub>3-36</sub> administration, however, is largely missing.

Against this background, the research described in the present thesis aimed at further characterizing the effect of PYY<sub>3-36</sub> on food intake and at examining its influence on non-food associated behaviors in rodent models. One main goal was to further identify possible sites of action and mechanisms of the eating-inhibitory effect of PYY<sub>3-36</sub> and to investigate its physiological relevance. Another key aim was to explore the consequences of PYY<sub>3-36</sub> administration on various behavioral functions, including basal and drug-induced exploratory behavior, social interaction, sensorimotor gating, and learning and memory.

The first set of experiments revealed that intrameal hepatic portal vein (HPV) infusions of PYY<sub>3-36</sub> acutely and selectively reduced the size of the ongoing meal in rats, suggesting a role of PYY<sub>3-36</sub> in satiation. Furthermore, these studies showed that a normal meal in rats led to a rapid increase in HPV and jugular vein (JV) PYY concentration. This systemic increase in PYY levels indicates that endogenous PYY<sub>3-36</sub> can have an immediate and direct action in the brain. Infusions of PYY<sub>3-36</sub>, however, increased JV plasma levels of PYY much more than a meal, suggesting that the observed reduction of meal size by exogenous PYY<sub>3-36</sub> reflected a pharmacological rather than physiological effect. Still, the observed eating inhibition seems to be due to satiation and not avoidance, as tested in a sensitive conditioned flavor avoidance paradigm. Circulating PYY<sub>3-36</sub> activated brain areas involved in the regulation of energy balance and meal size, but also areas involved in reward pathways.

In a second set of experiments, we demonstrated that an acute intraperitoneal (ip) injection of PYY<sub>3-36</sub> increased the behavioral responses to novelty and dopamine-stimulating drugs in mice. The former effect was reflected by increased exploration of a novel object, whereas the latter was evident as a potentiated responsiveness to both indirect and direct

dopamine receptor agonists. These findings indicate that PYY<sub>3-36</sub> interacts with salient stimuli (such as a novel object) or with indirect (amphetamine) and direct (apomorphine) dopamine receptor agonists to modulate dopamine-dependent behavioral functions. By studying the co-expression of the early gene product c-Fos with dopaminergic and  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA)ergic markers, we showed that PYY<sub>3-36</sub> did not induce neuronal activation of dopamine cells or GABA cells in either the ventral tegmental area (VTA) or the substantia nigra pars compacta (SNc). Interestingly, however, PYY<sub>3-36</sub> strongly activated GABAergic cells in the ventral and dorsal striatum. These findings suggest that administration of PYY<sub>3-36</sub> does not directly activate dopaminergic cells in the midbrain, but instead activates the main striatal input structures targeted by midbrain dopaminergic pathways.

Our third study demonstrated that an acute ip injection of PYY<sub>3-36</sub> in mice led to functional alterations in multiple behavioral domains, including social interaction, sensorimotor gating, selective associative learning, and spatial working memory. Treatment with the preferential dopamine D2 receptor antagonist haloperidol was sufficient to restore the PYY<sub>3-36</sub>-induced deficits in sensorimotor gating, indicating that the PYY<sub>3-36</sub>-induced disruption of central gating mechanism may, at least in part, be explained by increased dopaminergic signaling at dopamine D2 receptors.

Overall, the work presented in this thesis provides evidence that PYY<sub>3-36</sub> decreases the size of an ongoing meal in rats and that the inhibitory effects of PYY<sub>3-36</sub> on food intake are unlikely to be associated with malaise and related negative effects that could lead to flavor avoidance. Thereby, the present work provides important preclinical data supporting the hypothesis that PYY<sub>3-36</sub> administration may be a valuable approach in the development of therapeutic strategies aiming to treat obesity and related disorders. At the same time, our findings show for the first time that exogenous PYY<sub>3-36</sub> treatment significantly affects a number of essential behavioral functions. The identified behavioral effects of PYY<sub>3-36</sub> emphasize that clinical attempts, trying to establish PYY<sub>3-36</sub> treatment as a potential therapeutic strategy, may need to carefully balance the possible beneficial (the food intake reduction) with possible negative side effects (on behavioral dysfunctions). Some of the behavioral effects induced by PYY<sub>3-36</sub> treatment are reminiscent of functional disturbances found in schizophrenia and related psychotic disorders. Hence, even though the PYY<sub>3-36</sub>-induced behavioral changes may be challenging for its clinical use, these findings provide a valuable set of data for preclinical schizophrenia research.

## Zusammenfassung

Dem gastrointestinalen Hormon Peptid Tyrosin-Tyrosin 3-36 (PYY<sub>3-36</sub>) wird eine wichtige Rolle bei der Steuerung der Nahrungsaufnahme zugeschrieben. Der Befund, dass PYY<sub>3-36</sub> die Nahrungsaufnahme beim Menschen reduzieren kann, führte zu einem gesteigerten Interesse an dem Peptid und an seinem möglichen Potential in der Therapie von Adipositas. Die Wirkorte von PYY sowie die genauen Wirkmechanismen sind jedoch noch nicht vollständig geklärt.

PYY<sub>3-36</sub> aktiviert unterschiedliche Areale des Gehirns, neben homöostatischen Regionen, wie den Hypothalamus, auch Regionen, die für Belohnungsprozesse im Gehirn wichtig sind, wie zum Beispiel das ventrale Tegmentum und das ventrale Striatum. Deshalb erscheint es naheliegend, dass die Verabreichung von PYY<sub>3-36</sub>, neben dem bereits bekannten Effekt auf das Essverhalten, auch andere biologische Funktionen oder Verhaltensweisen beeinflusst. Bisher gibt es jedoch kaum Studien zu möglichen weiteren Konsequenzen der Gabe von PYY<sub>3-36</sub>. Es scheint daher notwendig, entsprechende Untersuchungen auf weitere Verhaltensparameter auszuweiten.

Wir charakterisierten deshalb in der vorliegenden Dissertation die Effekte von PYY<sub>3-36</sub> auf die Nahrungsaufnahme und untersuchten seinen Einfluss auf weitere Verhaltensparameter, die nicht direkt mit der Nahrungsaufnahme zusammenhängen. Ein Hauptziel hierbei war, die Wirkorte und Wirkmechanismen, die dem Effekt von PYY<sub>3-36</sub> auf die Nahrungsaufnahme zugrunde liegen, näher zu untersuchen sowie festzustellen, inwiefern dieser Effekt physiologisch relevant ist. Ein weiteres Ziel war es, abzuklären, ob die Verabreichung von PYY<sub>3-36</sub> auch andere Verhaltensparameter beeinflussen kann, wie zum Beispiel basales und drogen-induziertes Erkundungsverhalten, soziale Interaktionen, sensorisch-motorische Filterfunktionen, sowie Lernverhalten und Gedächtnis.

Eine erste Reihe von Experimenten zeigte, dass ferngesteuerte Infusionen von PYY<sub>3-36</sub> in die Pfortader von Ratten während einer Mahlzeit zu einer akuten und selektiven Reduktion der Mahlzeitgrösse führten. PYY<sub>3-36</sub> könnte demnach am Zustandekommen der Sättigung beteiligt sein, zumal eine normale Mahlzeit zu einem Anstieg der Plasmaspiegel von PYY in der Pfortader und in der Jugularvene führte. Diese Veränderungen deuten zudem darauf hin, dass endogenes PYY<sub>3-36</sub> auch unmittelbar und direkt im Gehirn wirken kann. Die PYY<sub>3-36</sub>-Infusion führte jedoch zu höheren Plasmaspiegeln von PYY als eine normale Mahlzeit, was dafür spricht, dass die beobachtete Reduktion der Mahlzeitgrösse nach PYY<sub>3-36</sub>-Infusion eher ein pharmakologischer als ein physiologischer Effekt ist. Da die Infusion aber zu keinen aversiven Reaktionen führte, dürfte der Effekt auf die Nahrungsaufnahme trotzdem auf eine

Verstärkung der Sättigung und nicht auf Übelkeit oder sonstige Nebenwirkungen zurückzuführen sein. PYY<sub>3-36</sub> aktivierte verschiedene Gehirnregionen, die für die Steuerung der Nahrungsaufnahme wichtig sind, aber auch Regionen, die an Belohnungsprozessen beteiligt sind.

In der zweiten Serie von Experimenten konnten wir zeigen, dass eine akute intraperitoneale (ip) Injektion von PYY<sub>3-36</sub> bei Mäusen die Erkundung eines unbekanntes Objektes sowie die Verhaltensreaktionen auf direkte und indirekte Dopamin-Rezeptor-Agonisten verstärkte. Dies weist darauf hin, dass PYY<sub>3-36</sub> zu einer Veränderung dopamin-abhängiger Verhaltensweisen führt. Wir untersuchten ferner die Co-Expression von c-Fos-Protein, einem Marker für die Aktivierung von Neuronen, mit einem Marker für dopaminerge Neurone oder mit einem Marker für  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA)erge Neurone. Dieses Experiment zeigte, dass PYY<sub>3-36</sub> zu keiner Aktivierung von Dopamin- oder GABA-Neuronen im ventralen Tegmentum (VTA) und in der Substantia nigra pars compacta (SNc) führte. Hingegen aktivierte PYY<sub>3-36</sub> GABA-Neurone im ventralen sowie dorsalen Striatum. PYY<sub>3-36</sub> scheint also keinen direkt aktivierenden Effekt auf dopaminerge Zellen im Mittelhirn zu besitzen, sondern stattdessen deren wichtigstes Projektionsgebiet zu beeinflussen, das Striatum.

In einer dritten Studie führte die ip Injektion von PYY<sub>3-36</sub> bei Mäusen zu Veränderungen in sozialen Interaktionen, sensorisch-motorischen Filterfunktionen, selektivem, assoziativem Lernen sowie im Arbeitsgedächtnis. Eine Vorbehandlung mit Haloperidol, einem Dopamin-D2-Rezeptor Antagonisten, konnte die durch PYY<sub>3-36</sub> verursachten Defizite in sensorisch-motorischen Filterfunktionen verhindern, was die Vermutung nahelegt, dass die Entstehung dieser Defizite zumindest teilweise den Dopamin-D2-Rezeptor involvieren.

Insgesamt sprechen die Ergebnisse dieser Dissertation dafür, dass PYY<sub>3-36</sub> bei Ratten eine Rolle in der Sättigung spielt. Ein Einfluss von Übelkeit oder damit verbundenen negativen Konsequenzen, die zu konditionierter Ablehnung führen könnten, scheint hier unwahrscheinlich. Damit liefern wir wichtige präklinische Erkenntnisse für einen eventuellen Einsatz von PYY<sub>3-36</sub> in bei der Behandlung von Adipositas und damit assoziierten Erkrankungen. Gleichzeitig zeigen unsere Ergebnisse jedoch auch erstmals, dass PYY<sub>3-36</sub> eine Reihe weiterer Verhaltensparameter beeinflussen kann, was darauf hinweist, dass beim klinischen Einsatz von PYY<sub>3-36</sub> besondere Vorsicht im Hinblick auf mögliche negative Nebenwirkungen geboten ist. Manche, der von PYY<sub>3-36</sub> induzierten Verhaltensveränderungen treten auch bei Schizophrenie und damit verbundenen psychischen Erkrankungen auf.

Obwohl die hier vorliegenden Daten einerseits zeigen, dass der klinische Einsatz von PYY<sub>3-36</sub> von gewissen Schwierigkeiten begleitet sein könnte, liefern sie damit andererseits sehr wichtige Erkenntnisse für die präklinische Schizophrenie-Forschung.