

Projekcja oreksynowa (hipokretynowa) nowym układem niespecyficznym mózgowia ssaków

Marian H. Lewandowski

Pracownia Neurofizjologii i Chronobiologii, Zakład Fizjologii Zwierząt
Uniwersytet Jagielloński

Streszczenie

Odkrycie w okolicach podwzgórza ssaków w końcu lat 90. ubiegłego wieku **neuropeptydu oreksyny** (hipokretyny) dało nowe spojrzenie na układy niespecyficzne mózgowia. Okazało się bowiem, że neurony oreksynowe posiadają rozsianą, dyfuzyjną projekcję do wielu bardzo ważnych obszarów mózgowia, w tym przede wszystkim do głównych źródeł klasycznej projekcji niespecyficznego zlokalizowanej w pniu mózgu. Dalsze badania wykazały, że projekcja oreksynowa jest nadrzędna i reguluje aktywność neuronów cholinergicznym, noradrenergicznym, dopaminergicznym, histaminergicznym i serotonergicznym, stając się tym samym podstawową w reakcji wzbudzenia mózgowia (**arousal**). Główna rola, tego nowo odkrytego układu niespecyficznego mózgowia polega na regulacji najważniejszego i podstawowego rytmu naszego ciała - snu i czuwania. Istnieją wstępne doniesienia sugerujące obecność włókien neuronów oreksynowych w okolicach jąder nadskrzyżowaniowych podwzgórza i listka ciała kolankowatego bocznego wzgórza, dwu głównych elementów neuronalnego mechanizmu zegara biologicznego ssaków. Odkrycie neuropeptydu oreksynowego jego kliniczne i biologiczne znaczenie to kolejny krok milowy w neurobiologii.

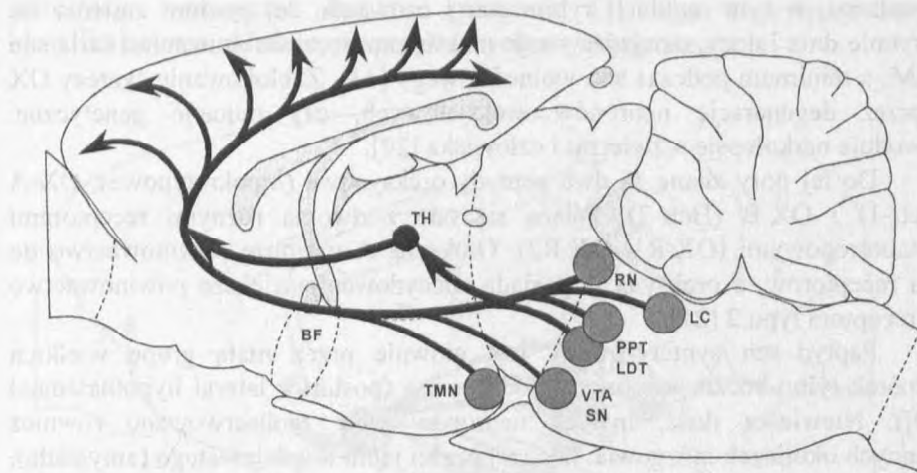
Wzbudzenie (arousal)

Charakterystyczną cechą ośrodkowego układu nerwowego jest jego wyraźny podział na dwa, anatomicznie oddzielne, choć funkcjonalnie, ściśle wzajemnie powiązane układy. Pierwszy, stanowią drogi specyficzne, po których bieżą wszelkie dośrodkowe informacje sensoryczne i odśrodkowe motoryczne. Układy te charakteryzuje selektywność przewodzonych informacji, która oznacza, że określoną drogą przebiegają specyficzne dla tej projekcji informacje, np. wzrokową – światłne, węchową – chemiczne, a słuchową – dźwiękowe. Drugi, stanowią drogi niespecyficzne, które nie przewodzą żadnej szczególnej

informacji sensorycznej, z konkretnej strefy recepcyjnej, czy narządu zmysłu do określonego obszaru kory mózgowej. Anatomicznie tworzą one projekcje bardzo „rozsiane” – dyfuzyjne, mające zakończenia w wielu miejscach mózgowia. Aktywność źródeł tych układów powoduje ogólne wzbudzenie mózgowia, tzw. **reakcję arousal**. Wzbudzenie to, którego elektrofizjologicznym obrazem jest desynchronizacja aktywności neuronów korowych powoduje, że informacje płynące drogami specyficznymi są przez odpowiednie obszary mózgowia, głównie kory mózgowej dobrze „rozumiane”. Układy niespecyficzne przygotowują zatem mózg do odbioru i adekwatnej reakcji na napływające z układów specyficznych, bodźce różnej modalności. Właściwe „współgranie” tych dwu układów zapewnia prawidłową pracę mózgowia, nie tylko w kontekście korowego torowania informacji sensorycznych, ale także udziału w mechanizmie wielu ważnych procesów fizjologicznych. Jednym z podstawowych i niezbędnym dla prawidłowego funkcjonowania organizmu jest mechanizm snu i czuwania - najważniejszy rytm naszego ciała [5]. Dlatego też nie jest zaskoczeniem, iż projekcje niespecyficzne mózgowia mają swoje zakończenia również w neuronalnych elementach budujących mechanizm zegara biologicznego ssaków.

Układ Siatkowaty Wstępujący Wzbudzający (ARAS)

W 1949 roku Moruzzi i Magoun [15], w przypadkowo przeprowadzonym eksperymencie, udowodnili niezbędność tworu siatkowatego pnia mózgu w utrzymaniu korowej aktywności i behawioralnej reakcji wzbudzenia, nazywając tę projekcje układem siatkowatym wstępującym wzbudzającym (**ascending reticular activating system – ARAS**). Wstępujące projekcje niespecyficzne tworu siatkowatego docierają do obszarów korowych mózgu drogą grzbietową przez wzgórze (thalamus), a brzusznią przez jądra podstawne (basal forebrain) i podwzgórze (hypothalamus). Natomiast neurony projekcji zstępującej tworu siatkowatego dochodzą do mięśni obwodowych poprzez aktywację neuronów motorycznych rdzenia przedłużonego (Ryc. 1). Głównym neurotransmiterem dyfuzyjnej projekcji wzgórzowo-korowej i niektórych neuronów jąder podstawnych jest glutaminian (GLU), którego aktywność modulowana jest poprzez takie neuromodulatory pnia mózgu jak: noradrenalina jądra sinawego (locus coeruleus), dopamina istoty czarnej i obszaru brzuszno-bocznego pokrywy (substantia nigra i ventral tegmental area), serotonina jąder szwu (raphe), acetylocholina neuronów śródmózgowo-mostowych (pontomesencephalic) czy histamina neuronów guzowatości jądra suteczkowatego (tuberomammillary).



Ryc. 1. Schemat przebiegu projekcji siatkowego wstępującego układu wzbudającego (ascending reticular activating system- ARAS) pnia mózgu.

BF – jądra podstawne (basal forebrain), TH – wzgórze (thalamus), LC – jądro sinawe (locus coeruleus), projekcja noradrenergiczna; LDT – grzbietowo-boczne jądro nakrywki (laterodorsal tegmental nucleus), projekcje cholinergiczne; TMN – guzowatość jądra suteczkowego (tuberomammillary nucleus), projekcja histaminergiczna; RN – jądro szwu (raphe nucleus), projekcja serotoninergiczna; VTA/SN – obszar brzuszno-boczny i istota czarna (ventral tegmental area i substantia nigra), projekcja dopaminergiczna.

Projekcja oreksynowa (hipokretynowa)

W końcu lat 90. ubiegłego wieku grupa badaczy z San Diego pod kierunkiem Gregora Sutcliffe odkryła w okolicach podwzgórza peptyd kontrolujący apetyt i regulujący wagę ciała. Wcześniejsze badania, w których szczyrom uszkodzono przyśrodkowe podwzgórze powodowało u badanych zwierząt otyłość, a zniszczenie bocznego podwzgórza prowadziło do anoreksji [7]. Peptyd ten, od miejsca jego podwzgórzowej lokalizacji (**hypotalamic**) i strukturalnym podobieństwem do hormonu jelitowego sekretyny (**secretin**), nazwano hipokretyną - **Hctr (hypocretin)** [4]. W tym samym czasie grupa Yanagisawa z Teksasu poszukując ligandów receptorów orpanowych, znalazła w okolicach podwzgórza dwa peptydy, oreksynę A i B wiążące się z tymi receptorami. Nazwa **oreksyna – OX** pochodzi od greckiego słowa określającego apetyt i wprowadzona została, po obserwacji wzrostu apetytu po podaniu tego peptydu do komory bocznej mózgowia szczurów. Wkrótce okazało się, że hipokretyna i oreksyna to jeden i ten sam związek, biorący udział nie tylko w regulacji pobierania pokarmu, ale także zachowań i stanów behawioralnych

organizmu, w tym regulacji rytmu snu i czuwania. Jej poziom zmienia się w rytmie dnia i nocy, osiągając swoje maksimum w czasie czuwania i fazy snu REM, a minimum podczas snu wolnofalowego [13]. Zablockowanie syntezy OX poprzez degenerację neuronów oreksynowych, czy mutacje genetyczne, powoduje narkolepsję u zwierząt i człowieka [20].

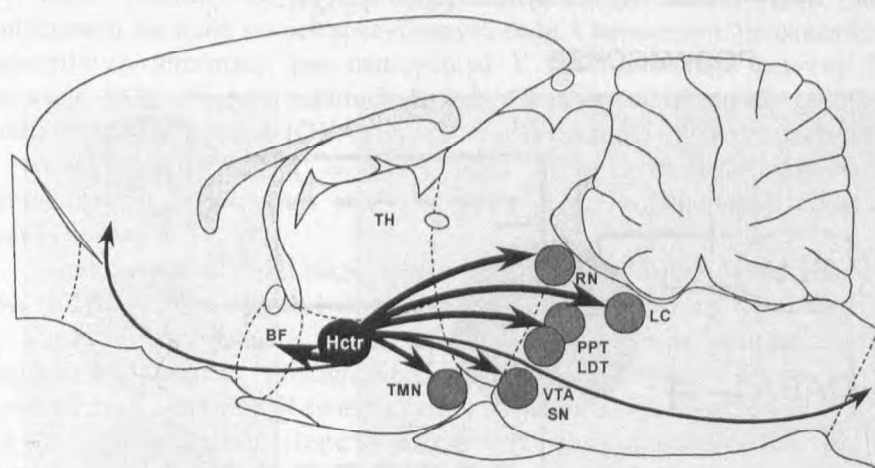
Do tej pory znane są dwa peptydy oreksynowe (hipokretynowe), OX-A (Hctr-1) i OX-B (Hctr-2). Wiążą się one z dwoma różnymi receptorami metabotropowymi (OX-R1, OX-R2). Oreksyna A ma duże powinowactwo do obu receptorów, a oreksyna B posiada zdecydowanie większe powinowactwo do receptora typu 2 [21].

Peptyd ten syntetyzowany jest głównie przez małą grupę wielkich komórek tylnobocznego obszaru podwzgórza (posterior lateral hypothalamus) [19]. Niewielką ilość, małych neuronów Hctr zaobserwowano również w innych okolicach mózgowia: bocznej części jądra migdałowego (amygdala), przednio boczny obszarze jądra łożyskowego (bed nucleus) i komory bocznej [3] jak również w neuronach węchowych [2].

Aksony neuronów Hctr, głównie tych zlokalizowanych w okolicach podwzgórza unerwiają liczne obszary mózgowia. Najbogatsze projekcje dochodzą do jądra sinawego i jąder szwu, których zstępujące włókna dochodzą do neuronów motorycznych kontrolując napięcie mięśniowe, a wstępujące unerwiające przedomózgowie, biorą udział w integracji sensorycznej. Źródła projekcji cholinergicznego pnia mózgu i jąder podstawnych, to kolejne miejsce silnie unerwione przez włókna oreksynowe. Projekcja cholinergiczna tych obszarów jest odpowiedzialna za korową aktywację, efektem której jest czuwający mózg. Zadanie projekcji oreksynowej polega na koordynacji aktywności tych cholinergicznymi projekcjami wzbudzeniowymi z aktywnością motoryczną organizmu. Komórki histaminergiczne tylnego i innych jąder podwzgórza zaangażowane w tzw. czujność przedomózgowia, także są pod silną kontrolą układu oreksynowego [16]. Również neurony dopaminergiczne biorące udział w procesach nagrody i mechanizmie czujności, kontroluje projekcja oreksynowa. Słabsze projekcje unerwiają obszary grzbietowych i brzusznych korzonków rdzenia przedłużonego, neuronów motorycznych i obszarów limbicznych pnia mózgu, a także kory mózgowej [za 23] (Ryc. 2).

W przeważającej większości projekcja oreksynowa jest pobudzająca, dotyczy to także neuronów GABA-ergicznych części siatkowatej istoty czarnej (pars reticulata substantia nigra) czy jądra przegrody (septal nucleus) unerwiającego hipokamp (hipocampus). Niesłuchanie istotne w tym wzbudzającym działaniu projekcji oreksynowej jest to, iż nie ma ona swoich zakończeń na neuronach dróg specyficznych wzgórza przewodzących

informacje sensoryczne do kory mózgowej [1]. Jest to kolejny dowód klasyfikujący ten układ do niespecyficznych projekcji mózgowia.



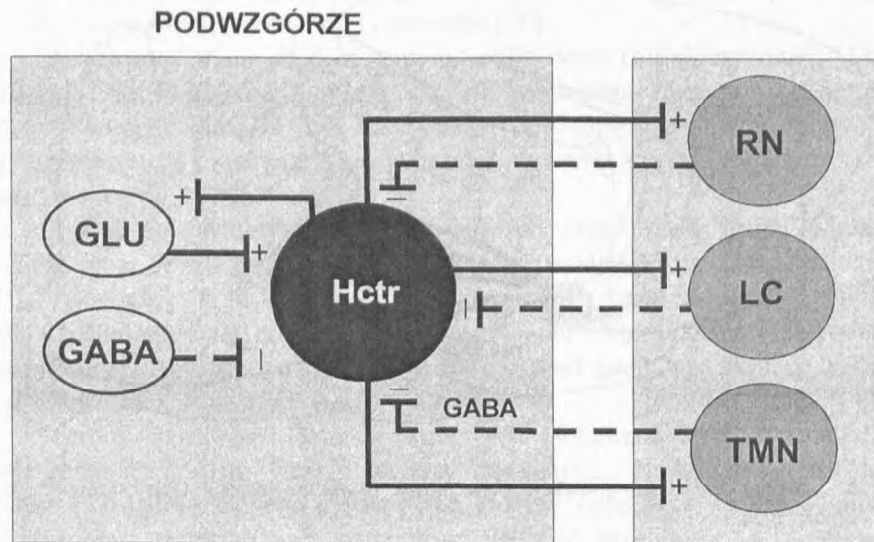
Ryc. 2. Schemat przebiegu projekcji oreksynowo (hipokretynowej). Opis skrótów ryc.1, Hctr – hipokretyna.

Bezpośrednie, postsynaptyczne pobudzające działanie oreksyny, zależy często od efektu jej równoczesnej aktywacji innych włókien, mogących mieć swoje zakończenia na pobudzanej synapsie. Tak jest np. w wypadku komórek serotonergicznym i noradrenergicznym, które jednocześnie otrzymują bezpośrednie pobudzenie oreksynowe i pośrednie hamowanie z komórek GABAergicznym pobudzonych także przez oreksynę. Efekt bezpośredniego pobudzającego wpływu oreksyny, zależy zatem od modulujących wpływów pośrednich i nie zawsze musi być pobudzający. Takie modulujące działanie, wzmacniające słabe sygnały i hamujące silne, jest charakterystyczne dla układów niespecyficznych.

Modulujący wpływ projekcji oreksynowej na aktywność neuronalną, dostarczają także wyniki badań *in vitro*. Pobudzenie neuronów oreksynowych w skrawkach podwzgórza po podaniu oreksyny, to efekt pośredni wywołany wzrostem aktywności komórek glutaminergicznym sąsiadujących z komórkami oreksynowymi, a nie bezpośredni wpływ na komórki oreksynowe [11].

Mechanizm hamującego sprzężenia zwrotnego obserwowany jest także między układem oreksynowym, a noradrenergicznym i serotonergicznym. Z jeden strony oreksyna bezpośrednio pobudza te dwie projekcje, które zwrótnie mogą osłabić jej działanie, poprzez hamujący wpływ na obecne w okolicach projekcji oreksynowej neurony glutaminergiczne. Również projekcja

histaminergiczna z guzowatości jądra suteczkowego wpływa hamująco na neurony oreksynowe, przez wydzielany kwas GABA, bowiem sama histamina ma mały wpływ na neurony oreksynowe [11, 24] (Ryc. 3).



Ryc. 3. Schemat dodatniego i ujemnego sprzężenia zwrotnego przedstawiającego regulację aktywności oreksynowej (hipokretynowej) – opis skrótów ryc.1 (zmodyfikowane za [14])

Ostatnie badania wykazały, że wydzielanie oreksyny ma charakter endogenny i jest zależne od obecności głównego generatora zegara biologicznego ssaków - jąder nadskrzyżowaniowych (**suprachiasmatic nuclei – SCN**) podwzgórza [25]. Niezwykle interesująca jest obecność oreksyny A i B oraz receptorów OX-R1 w siatkówce ludzkiego oka [22]. Może to sugerować jej modulującą rolę w interakcji komórek zwojowych siatkówki, przewodzących informacje świetlne do jąder nadskrzyżowaniowych podwzgórza. Biorąc pod uwagę obecność receptorów oreksynowych OX-R1 i włókien zawierających OX w SCN [22], należy przypuszczać, że układ ten może mieć modulujący wpływ na neuronalną aktywność całego mechanizmu zegara biologicznego ssaków.

Szczególnie jednak znaczenie projekcji oreksynowej wiąże się z przekazywaniem informacji nieświetlnych (**non-photic**) do zegara biologicznego, które oprócz światła stanowią drugi ważny synchronizator mechanizmu zegara biologicznego ssaków [9]. W przekazywaniu tych informacji do głównego generatora rytmów biologicznych (SCN), uczestniczy listek ciała kolankowatego bocznego wzgórza (**intergeniculate leaflet of the thalamus –IGL**). Struktura ta otrzymuje bogate unerwienie w przeważającej

większości z układów niespecyficznych mózgowia, których aktywność decyduje o stanie wzbudzenia mózgowia (arousal). Wzbudzenie mózgowia wywoływane jest także oddziaływaniem na organizm bodźców nieświatlnych, które w mózgowiu nie mają swoich specyficznych dróg. Chemicznym przekaźnikiem, nieświatlnych informacji jest neuropeptyd Y (NPY), którego neurony IGL unerwiają SCN. Wyniki ostatnich badań wskazują na obecność zakończeń włókien oreksynowych A (OXA) na błonie ciał neuronów z NPY. Szczególnie na tych, które wykazują ekspresję genu *c-Fos* wywołaną aktywnością lokomotoryczną, zaliczaną jest do jednego z ważniejszych bodźców nieświatlnych [12, 17, 18].

Oreksyna moduluje także wydzielanie glutaminianu, neurotransmitera jąder nadskrzyżowaniowych i wpływa pobudzająco na neurony GABAergiczne [6]. Zarówno glutaminian, jaki i GABA to dwa główne neuroprzekaźniki mechanizmu zegara biologicznego ssaków. Pierwszy bierze udział w przewodzeniu informacji świetlnej z komórek zwojowych siatkówki do SCN, a drugi w generowaniu, izoperiodycznej aktywności neuronów IGL [8, 10]. Wszystkie te dane potwierdzają hipotezę, iż układ oreksynowy stanowi sprzężenie zwrotne między mechanizmem zegara biologicznego ssaków, wyznaczającym rytmy okołodobowe, a stanem aktywności organizmu.

Piśmiennictwo

1. Bayer L., Eggermann E., Saint-Mieux B., Machard D., Jones B.E. (2002) Selective action of orexin (hypocretin) on nonspecific thalamocortical projection neurons. *J. Neurosci.* 22: 7835-7839.
2. Caillol M., Aioun J., Baly C., Persuy M.A., Salesse R. (2003) Localization of orexin and their receptors in the rat olfactory system: possible modulation of olfactory perception by neuropeptide synthesized centrally or locally. *Brain Res.* 960: 48-61.
3. Ciriello J., Rosas-Arellano M.P., Solano-Flores L.P., de Oliveira C.V. (2003) Identification of neurons containing orexin-B (hypocretin-2) immunoreactivity in limbic structures. *Brain Res.* 967: 123-131.
4. De Lecea L., Kilduff T., Peyron C., Gao X.B., Foye PE., Danielson P.E., Fukuhara C., Battenberg E.L., Gautvik V.T., Bartlett F.S.II, Frankel W.N., van den Pol A.n., Bloom F.E., Gautvik K.M., Sutcliffe J.G. (1998) The hypocretins: Hypothalamus-sepcific peptides with neuroexcitatory activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 322-327.
5. Jones B.E. (2005) From walking to sleeping: neuronal and chemical substrates. *Trends Pharmacol. Sci.* 26: 578-589.

6. Korotkova T.M., Sergeeva O.A., Eriksson K.S., Haas H.L., Brown R.E. (2003) Excitation of ventral tegmental area dopaminergic and nondopaminergic neurons by orexin/hypocretin. *J. Neurosci* 23: 7-11.
7. Levitt D.R., Teitelbaum P. (1975) Somnolence, akinesia, and sensory activation of motivated behavior in the lateral hypothalamic syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 72: 2819-2823.
8. Lewandowski M.H., Błasiak T., Domosławski J., Wołkowska A. (2000) Ultradian rhythmic neuronal oscillation in the intergeniculate leaflet. *Neuroreport* 11: 317-321.
9. Lewandowski M.H. (2001) Wpływ układów niespecyficznych mózgowia na mechanizm zegara biologicznego ssaków. *Kol. Psychol.* 9: 30-43.
10. Lewandowski M.H., Błasiak T. (2004) Slow oscillation circuit of the intergeniculate leaflet. *Acta Neurobiol. Exp.* 64: 277-288.
11. Li Y., Gao X.B., Sakurai T., van den Pol A.N. (2002) Hypocretin/orexin excites hypocretin neurons via a local glutamate neurons – a potential mechanism for orchestrating the hypothalamic arousal system. *Neuron* 36: 1169-1181.
12. McGranaghan P.A., Piggins H.D. (2001). Orexin A-like immunoreactivity in the hypothalamus and thalamus of the Syrian hamster (*Mesocricetus auratus*) and Siberian hamster (*Phodopus sungorus*), with special reference to circadian structures. *Brain Res.* 904: 234-244.
13. Mileykovskiy B.Y., Kiyashchenko L.I., Siegel J.M. (2005) Behavioral correlates of activity in identified hypocretin/orexin neurons. *Neuron* 46:787-798.
14. Mochizuki T., Scammell T.E. (2003) Orexin/hypocretin: Wired for wakefulness. *Curr. Biol.* 13: R563-R564.
15. Moruzzi G., Magoun H.W. (1949) Brain stem reticular formation and activation of the EEG. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 1: 455-473.
16. Nambu T., Sakurai T., Mizukami K., Hosoya Y., Yanagisawa M., Goto K. (1999) Distribution of orexin neurons in the adult rat brain. *Brain Res.* 827: 243-260.
17. Nixon J.P., Smale L. (2004) Individual differences in wheel-running rhythms are related to temporal and spatial patterns of activation of orexin A and B cells in a diurnal rodent (*Arvicanthis niloticus*). *Neuroscience* 127: 25-34.
18. Nixon J.P., Smale L. (2005) Orexin fibers from appositions with Fos expressing neuropeptide-Y cells in the grass rat intergeniculate leaflet. *Brain Res.* 1053: 33-37.
19. Peyron C., Tighe D.K., van den Pol A.N., de Lecea L., Heller H.C., Sutcliffe J.G., Kilduff T.S. (1998) Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *J. Neurosci.* 18: 9996-10015.
20. Ripley B., Overeem S., Fujiki N., Nevsimalova S., Uchino M., Yesavage J., Di Monto D., Dohi k., Melberg A., Lammers G.J., et al. (2001) CSF hypocretin/orexin levels in narcolepsy and other neurological conditions. *Neurology* 57: 2253-2258.
21. Sakurai T., Amemiya A., Ishii M., Matsuzaki I., Chemelli R.M., Tanaka H., Williams S.C., Richardson J.A., Kozlowski G.P., Wilson S., Arch J.R., Buckingham R.E., Haynes A.C., Carr S.A., Annan R.S., McNulty D.E., Liu W.S., Terrett J.A., Elshourbagy N.A., Bergsma D.J., Yanagisawa M. (1998) Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 92: 573-585.
22. Savaskan E., Müller-Spahn F., Meier F., Wirz-Justice A., Meyer P. (2004) Orexin and their receptors in the human retina. *Pathobiol.* 71: 211-216.
23. Siegel J.M. (2004) Hypocretin (orexin): Role in normal behavior and neuropathology. *Annu. Rev. Psychol.* 55: 125-148.

24. Yamanaka A., Muraki Y., Tsujino N., Goto K., Samurai T. (2003) Regulation of orexin neurons by the monoaminergic and cholinergic systems. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 303:120-129.
25. Zhang S., Zeitzer J.M., Yoshida Y., Wisor J.P., Nishino S., Edgar D.M., Mignot E. (2004) Lesions of the suprachiasmatic nucleus eliminate the daily rhythm of hypocretin-1 release. *Sleep* 27: 619-627.

Adres do korespondencji:

Marian H. Lewandowski

Pracownia Neurofizjologii i Chronobiologii
Zakład Fizjologii Zwierząt, Instytut Zoologii

Uniwersytet Jagielloński

R. Ingardena 6,

30-060 Kraków

e-mail: LEW@zuk.iz.uj.edu.pl