

Aleksandra Jawiarczyk, Marek Bolanowski

Katedra i Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami Akademii Medycznej we Wrocławiu

Oreksyny – neuropeptydy o działaniu plejotropowym

Orexins – neuropeptides with multiple actions

STRESZCZENIE

Oreksyny (hipokretyny) to dwa neuropeptydy pochodzące z tego samego prekursora — preprohipokretyny. Występują głównie w podwzgórzu, jednak aksony perikarionów oreksynowych docierają prawie do wszystkich struktur ośrodkowego układu nerwowego. Oreksyny wywierają swoje działanie za pośrednictwem swoistych receptorów błonowych — OxR1 i OxR2 należących do nadrodziny receptorów sprzężonych z białkami G. Neuropeptydy te są zarówno odpowiedzialne za regulację łaknienia, wydatkowanie energii, jak i za sekrecję hormonów przez przysadkę oraz regulację stanu sen-czuwanie. Wyniki najnowszych badań wskazują na bardzo rozległy wpływ oreksyn na organizm, w tym wpływ na rozwój uzależnienia. Poznanie roli oreksyn może się okazać podstawą do leczenia wielu schorzeń, jak choćby narkolepsji, zaburzeń syntezy hormonu wzrostu czy też leczenia uzależnień.

Słowa kluczowe: oreksyny, hipokretyny, zaburzenia metaboliczne, narkolepsja, przysadka

Endokrynologia, Otyłość i Zaburzenia Przemiany Materii 2010, tom 6, nr 3, 147–153

ABSTRACT

Orexins (hypocretins) are two neuropeptides originating from the same precursor, preprohypocretin. They are situated mainly in the hypothalamus, while orexin fibres project throughout the brain. Orexins action is mediated via G-protein coupled receptors of two different subtypes (OxR1 and OxR2). These neuropeptides are responsible for control of food intake, energy expenditure as well as the regulation of pituitary hormone secretion and sleep-wake func-

tion. The recent studies show the significant influence of these neuropeptides for the organism, including orexin's role in drugs addiction. Further investigation into orexin system may create new therapeutic options for curing the diseases such as narcolepsy, disturbance in secretion of growth hormone or drug abuse.

Key words: orexins, hypocretins, metabolic disturbances, narcolepsy, pituitary

Endocrinology, Obesity and Metabolic Disorders 2010, vol. 6, No 3, 147–153

Wstęp

Oreksyny/hipokretyny to nowo odkryte neuropeptydy syntetyzowane głównie przez neurony zlokalizowane w bocznej części podwzgórza. Historia dotycząca ich roli i występowania w organizmie jest bardzo krótka. Początkowo uważano, że odgrywają rolę w zakresie regulacji apetytu. Jednak szeroka dystrybucja włókien oreksynowych w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) sugerowała, że ich działanie może mieć charakter plejotropowy [1]. Celem niniejszej pracy było przedstawienie istniejących obecnie w piśmiennictwie danych na temat roli oreksyn w organizmie i ich wpływu na liczne zachodzące w nim procesy.

Historia odkrycia oreksyn

Omawiane peptydy zostały odkryte w 1998 roku przez dwie niezależne grupy badawcze, stosujące odmienne metody identyfikacji peptydów oraz ich re-

Adres do korespondencji: lek. Aleksandra Jawiarczyk
Katedra i Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami AM
ul. Wybrzeże L. Pasteura 4, 50-367 Wrocław
tel.: 71 784 27 41
e-mail: aleksandra.olczur@gmail.com
Copyright © 2010 Via Medica
Nadesłano: 30.09.2010 Przyjęto do druku: 11.10.2010

ceptorów u szczurów. Pierwsza grupa kierowana przez de Lecea prowadziła badanie, którego celem była identyfikacja 38 różnych mRNA występujących w podwzgórzu szczura. Stosując do ich identyfikacji model wybiórczej hybrydyzacji, udało się wykazać, że jeden z nich odpowiada za kodowanie syntezy peptydu zbudowanego ze 130 reszt aminokwasowych (aa, *amino acids*). Peptyd ten okazał się prekursorem dwóch białek składających się z 39 aa i 29 aa. Nazwa „hipokretyny” powstała z połączenia dwóch członów „hipo-”, od podwzgórza oraz „kretyna” od sekretyna (podobieństwo strukturalne sekwencji aa do hormonu jelitowego sekretyny). Nadano im odpowiednio nazwę hipokretyna 1 (hcrt-1) i hipokretyna 2 (hcrt-2), a białko będące ich prekursorem nazwano preprohipokretyną [2].

W tym samym czasie grupa japońskich badaczy pod kierunkiem Sakurai poszukiwała endogennych ligandów dla sierocych receptorów G, które występowały w OUN. Udało im się wyizolować dwa nowe peptydy, zbudowane odpowiednio z 33 aa i 28 aa, które pobudzały tak zwany receptor sierocy sprzężony z białkiem G o nazwie HFGAN72 (obecnie receptor oreksynowy/hipokretynowy 1, OxR1/hcrt1). Z uwagi na miejsce występowania (głównie boczne podwzgórze — centrum łaknienia) i fakt, że podanie tych nowo odkrytych peptydów do komory trzeciej mózgu wzmagало łaknienie, nazwano je oreksynami — oreksyna A (1) i oreksyna B (2), od greckiego słowa *orexis*, czyli łaknienie [3]. Peptydy odkryte przez obie grupy okazały się identyczne pod względem budowy. Obecnie obydwa terminy są używane zamiennie, choć częściej używa się sformułowań oreksyna 1 i 2.

Powstanie peptydów jest wynikiem proteolitycznej aktywacji nieczynnego prekursora preprooreksyny, który u człowieka jest zbudowany ze 131 aa. Gen odpowiedzialny za ich syntezę jest zlokalizowany na chromosomie 17 i składa się z jednego intronu i dwóch aksonów [3]. Pierwsze 33 aa stanowią sekwencję sygnałową. Ponadto cząsteczka prekursorowa zawiera trzy miejsca przeznaczone do cięcia przez enzymy. Sekwencja aminokwasowa oreksyny 1 (aa 34–66) i oreksyny 2 (aa 69–97) ma 14 identycznych reszt aa, co daje 46% homologii strukturalnej oraz 7 reszt aa identycznych z sekretyną [1]. Natomiast brakuje tak dużej homologii w budowie pierwszorzędowej pomiędzy oreksyną a innymi peptydami należącymi do rodziny glukagon/naczyniowo aktywny peptyd jelitowy (VIP, *vasoactive intestinal peptide*)/sekretyna. Przyjmuje się, że gen dla oreksyny powstał w wyniku przekształcenia genu dla sekretyny [4].

Budowa i występowanie oreksyn w organizmie

Oreksyna 1 jest zbudowana z 33 aa. Na skutek procesu transaminacji w rejonie N-końcowym powstaje cykliczny pyroglutamyl. Istotnym elementem jej budowy są dwa mostki dwusiarczkowe zlokalizowane pomiędzy cząsteczkami cysteiny w pozycjach 6 i 12 (pierwszy) oraz 7 i 14 (drugi). Uważa się, że właśnie te cechy decydują o większej stabilności w stosunku do oreksyny 2, co tym samym tłumaczy fakt, że jej stężenie we krwi jest wyraźnie wyższe. Dodatkowo wykazano, że oreksyna 1 jest bardziej lipofilna niż oreksyna 2, dzięki czemu przekracza barierę krew–mózg i jej stężenie w płynie mózgowo-rdzeniowym jest wielokrotnie wyższe [5].

Neurony oreksynowe znajdują się przede wszystkim w podwzgórzu. Są rozmieszczone obustronnie, w bocznej części podwzgórza, a zwłaszcza w okolicy okołosklepieniowej (boczna część tej okolicy to ośrodek głodu), a także w jądrach brzuszno-przyśrodkowym, grzbietowo-przyśrodkowym, łukowatym i wyniosłości pośrodkowej. Szacuje się, że liczba neuronów podwzgórzowych wydzielających oreksynę to 70 000. Niewielkie liczby neuronów zawierających oreksynę 2 znaleziono w ciele migdałowatym, prążkowi i w obszarze, który brzusznie graniczy z komorą boczną mózgu [6]. Na uwagę zasługuje spostrzeżenie, że w podwzgórzu między neuronami oreksyny występują neurony z MCH (*melanin-concentrating hormone*) [7]. Istotne jest również wykazanie obecności sekretynowego białka Narp (*neuronal activity-regulated pentraxin*) w obrębie neuronów oreksynowych podwzgórza. Białko to jest regulatorem procesów synaptogenezy i być może odpowiada za część niereceptorowych wpływów oreksyny [8].

Projekcja podwzgórzowych neuronów wydzielających oreksynę jest bardzo rozległa, ich aksony tworzą szeroką sieć, docierającą do wielu struktur OUN, między innymi kory mózgowej, hipokampa, wzgórza, pnia mózgu, rdzenia kręgowego oraz niemal do wszystkich elementów strukturalnych podwzgórza, włączając jądro łukowate, jądro nadoczodołowe i okołokomorowe, a także do cholinergicznym neuronów mostu generujących sen REM. W ten sposób projekcja włókien oreksynowych dociera nie tylko do neuronów cholinergicznym, ale także do miejsc, gdzie są wydzielane klasyczne neuroprzekaźniki: noradrenalina (miejsce sinawe), serotonina (jądra szwu) czy dopamina (środkowe pole nakrywki) [6, 7]. Początkowo uważano, że jedynym miejscem syntezy oreksyn jest OUN. Obecnie wiadomo, że występowanie oreksyn oraz receptorów jest znacznie szersze. Znajdują się one w narządach ob-

wodowych i gruczołach wydzielania wewnętrznego, takich jak: przewód pokarmowy, trzustka, nadnercza, jądra, szyszynka, przysadka, neurony współczulne, nerw błędny, siatkówka [9]. Określa się je mianem hormonów osi nerwowo-jelitowej, a ich synteza podlega regulacji przez wiele substancji.

Do tej pory poznano dwa receptory dla oreksyn: receptor typu 1 (OxR1) i receptor typu 2 (OxR2), należące do nadrodziny receptorów sprzężonych z białkiem G (GPCR, *G-protein-coupled receptors*) — grupy beta rodziny receptorów rodopsynowych. Receptor OxR1 sprzęga się jedynie z podjednostką G_q , podczas gdy OxR2 z obydwoma, czyli G_q i $G_{i/o}$. Do tej samej grupy należą receptory peptydów: neuropeptyd Y, cholecystokinina, hormon tyreotropowy (TSH, *thyroid-stimulating hormone*), wazopresyna, oksytocyna [10].

Poglądy co do stymulacji obu receptorów są zróżnicowane. Według Smarta oreksyna 1 w jednakowy sposób pobudza oba receptory, podczas gdy oreksyna 2 ma 10-krotnie większe powinowactwo do receptora OxR2 [11]. Inni badacze twierdzą, że receptor OxR1 jest selektywny dla oreksyny 1, zaś receptor OxR2 wiąże się z tym samym powinowactwem z obydwoma neuropeptydami. Lokalizacja w obrębie komórki receptorów oreksynowych jest bardzo ciekawa. Wyniki badań immunohistochemicznych pokazały, że receptor OxR1 znajduje się przede wszystkim w cytoplazmie, podczas gdy receptor OxR2 głównie w jądrze komórkowym [1]. Dotychczas ostatecznie nie poznano mechanizmu przekazywania sygnału w wyniku pobudzenia receptorów oreksynowych. Receptory te mogą prowadzić do aktywacji białek G_q , G_s , $G_{i/o}$ [12]. Wyniki dotychczasowych badań wykazały, że pobudzenie receptorów oreksynowych prowadzi do wzrostu wewnątrzkomórkowego stężenia wolnych jonów wapniowych [13].

Rola oreksyn w organizmie

Rozległość występowania oreksyn i jej receptorów wskazuje na działanie plejotropowe neuropeptydów. Pełnią one funkcję neurotransmitera i neuromodulatora. Dodatkowo, ze względu na wydziałanie do krwi obwodowej, założono, że pełnią one również rolę hormonów. Rola oreksyn w organizmie to a) regulacja w zakresie pobierania pokarmu i wydatkowania energii (oddziaływanie na boczne podwzgórze), b) udział w regulacji wydzielania hormonów tropowych (poprzez wpływ na poziomie podwzgórza), c) regulacja rytmu sen–czuwanie przez oddziaływanie na jądro miejsca sinawego [14].

Neurony tworzące „ośrodek głodu” są usytuowane w bocznym podwzgórze, natomiast „ośrodek sytości” to neurony jądra brzuszno-przyśrodkowego.

Ośrodki te pozostają w stosunkach wzajemnie zwrotnych i tym samym regulują ilość przyjmowanych pokarmów. Ustalono, że ośrodek sytości jest aktywny tylko czasowo, podczas gdy ośrodek głodu pozostaje aktywny cały czas. Do tych ośrodków są przekazywane informacje o aktualnym stanie energetycznym organizmu. Łaknienie jest regulowane przez tak zwaną kontrolę krótkoterminową i długoterminową. Kontrola krótkoterminowa wiąże się przede wszystkim z pobudzeniem ośrodka głodu na skutek zmian stężenia glukozy w krwi tętniczo-żylniej, co jednocześnie hamuje ośrodek sytości. Pobudzenie interoreceptorów żołądka, wzrost ciśnienia osmotycznego krwi i niektóre hormony przewodu pokarmowego hamują ośrodek głodu [15]. W wynikach wielu badań konsekwentnie potwierdza się, że oreksyny biorą udział w regulacji przyjmowania pokarmu. Podanie antagonisty OxR1 — SB-334867 powoduje zmniejszenie pobierania pokarmu [16]. Dotychczas wyniki badań sugerują, że oreksyny biorą udział w regulacji krótkoterminowej, zwiększając apetyt, a tym samym zapobiegają jadłowstrętowi. Zauważano, że u zwierząt pozbawionych receptorów oreksynowych bądź transgenicznych, niewytwarzających oreksyn, dochodzi do utraty łaknienia, a tym samym spadku masy ciała. W dostępnych badaniach wskazuje się, że tylko oreksyna A jest ważnym stymulatorem przyjmowania pokarmu, jednak o mniejszej sile działania niż neuropeptyd Y (NPY). Wykazano, że przewlekłe podawanie oreksyny bezpośrednio do komory mózgu stymuluje pobieranie pokarmu, natomiast nie prowadzi do otyłości, co z kolei ma miejsce przy długotrwałym podawaniu NPY [17]. Z uwagi na fakt, że większość receptorów oreksynowych ma funkcjonalne receptory dla leptyny, a także podanie leptyny do OUN istotnie obniża stężenie oreksyn u normalnych osobników, uważa się, że oreksyna jest odpowiedzialna za rozwój zaburzeń w mechanizmach kontrolujących pobieranie pokarmu u osób z mutacją genu leptyny bądź jej receptora [18]. Według danych zgromadzonych przez Kirchgessner, w organizmie istnieje sieć mózgowo-jelitowa neuronów oreksynowych, której zadaniem jest gromadzenie informacji o stanie narządów wykonawczych, odpowiedzialnych za przetwarzanie pokarmu, i tym samym decydują one o metabolizmie w krótkoterminowej regulacji homeostazy energii. Według niektórych badaczy stężenie oreksyn spada wraz z wiekiem, a więc oreksyna może odgrywać szczególną rolę w regulacji łaknienia u młodych osobników, natomiast w starszym wieku jej wpływ na apetyt jest zredukowany [19]. Lokalizacja anatomiczna neuronów oreksynowych i ich receptorów oraz współdziałanie z innymi peptydami pobudzającymi łaknienie (oreksynogenne) lub hamującymi pobieranie po-

karmu (anoreksygenne) wskazują na ważną rolę, jaką oreksyna odgrywa w regulacji łaknienia i wydatkowania energii [14]. Potwierdzeniem związku pomiędzy różnymi formami kontroli przyjmowania pokarmu jest wykazanie ekspresji receptorów dla neuropeptydu Y i leptyny na neuronach oreksynowych. Działanie pobudzające przyjmowanie pokarmu pod wpływem greliny i oreksyny oraz hamujące pod wpływem leptyny odgrywa bardzo ważną rolę w aktywności neuronów wydzielających NPY — peptyd najsilniej pobudzający łaknienie [20].

Szerokie rozpowszechnienie neuronów oreksynowych i ich receptorów wskazuje na fakt ich złożonej roli w organizmie. Włókna oreksynowe przenikają region przysadki, a wyniki wielu ostatnich badań wskazują na ich ważną rolę w zakresie wpływu na sekrecję hormonów przez przysadkę. W badaniach *in vitro* wykazano, że oreksyna 1 uwalnia neuropeptydy z eksplantów podwzgórzowych oraz ma bezpośredni wpływ na komórki wydzielnicze przysadki [12, 14]. Zbadano wpływ oreksyny na funkcjonowanie wielu osi podwzgórze–przysadka–gruczoł obwodowy. Oreksyna hamuje wydzielanie prolaktyny i efekt ten częściowo jest niezależny od dopaminy [21, 22]. Zahamowanie wydzielania prolaktyny przy dokomorowym podaniu oreksyny jest tylko częściowo złagodzone po podaniu antagonisty receptora dopaminy — domperidonu, podczas gdy w jego obecności zanika efekt zahamowania syntezy prolaktyny po wpływie podania hormonu uwalniającego tyreotropinę (TRH, *thyroid releasing hormone*), neurotensyny i wazopresyny. To wskazuje na częściową niezależność oreksyny od dopaminy [22]. Oreksyna wpływa na regulację osi podwzgórze–przysadka–nadnercza. Jakkolwiek jej wpływ na wydzielanie aldosteronu pozostaje wątpliwy, to wzmaganie wydzielania glukokortykosteroidów zostało potwierdzone zarówno u szczurów, jak i u człowieka. Efekt jest regulowany przez dwa mechanizmy: a) stymulację wydzielania kortykoliberyny (CRH, *corticotropic releasing hormone*), wazopresyny (ADH, *antidiuretic hormone*) i kortykotropiny (ACTH, *adrenocorticotropic hormone*); b) bezpośrednią stymulację komórek kory nadnerczy przez aktywację receptora OxR1 na drodze uruchomienia kaskady zależnej od cykazy adenylowej. Centralne podanie oreksyny 1 powoduje aktywację osi przysadka–nadnercza, powodując tym samym wzrost uwalniania ACTH i kortykosteronu [23]. Co więcej, wzrost stężenia kortykosteronu po centralnej iniekcji oreksyny 1 lub 2 jest całkowicie hamowany po podaniu antagonisty receptora CRH [24]. Na uwagę zasługuje spostrzeżenie, że pobudzenie wydzielania CRH pod wpływem oreksyny może być częściowo stymulowane za pośrednictwem neuropeptydu Y na drodze pobudzenia receptora Y1. Potwierdza to fakt, że pod wpływem

oreksyny dochodzi do wzrostu sekrecji z eksplantów podwzgórzowych nie tylko CRH, ale również NPY, a jej stymulujący efekt na wzrost syntezy CRH jest znoszony przez zastosowanie antagonistów receptora Y1 [23]. Ważnym aspektem jest również najprawdopodobniej udział oreksyny w procesach adaptacji anabolicznej podczas ciąży. Wykładnikiem tego może być zahamowana odpowiedź osi przysadka–nadnercza na podanie oreksyny u ciężarnych szczurów. Ekspresja receptorów oreksynowych jest znacząca w obrębie nadnerczy, co świadczy, że oreksyna może bezpośrednio stymulować nadnercza do produkcji hormonów. Badania dotyczące wpływu oreksyn na oś kortykotropową były wykonywane głównie u szczurów, ale pośrednie dowody sugerują wpływ endogennych oreksyn na regulację wydzielania osi podwzgórze–przysadka–nadnercza również u ludzi. Wyniki dotychczasowych badań wskazują, że w obrębie ludzkich nadnerczy występują oba typy receptorów oreksynowych z dominacją OxR2. Poziom ekspresji receptorów jest zróżnicowany w zależności od płci. Ten dymorfizm ekspresji receptorów wynika być może z odmiennej roli systemu oreksyn w zależności od płci. Wielu badaczy wykazało, że ekspresja receptorów oreksynowych w podwzgórze, przysadce, nadnerczach bądź gonadach jest zależna od statusu żeńskich hormonów płciowych [25]. Ważnym aspektem jest również fakt wykazania, że u osób chorujących na narkolepsję (choroba związana z deficytem oreksyn) dochodzi także do stłumienia w zakresie wydzielania ACTH i kortyzolu [26].

Projekcje włókien oreksynowych dochodzą w obręb klasycznych jąder kontrolujących sekrecję hormonu wzrostu (GH, *growth hormone*) przez przedni płat przysadki, takich jak jądro okołokomorowe (tu głównie ekspresja somatostatyny) oraz jądro łukowate (ekspresja hormonu uwalniającego hormon wzrostu [GHRH, *GH releasing hormone*]) [7]. W obrębie tych jąder wykazano współlistnienie włókien oreksynowych z neuronami wykazującymi ekspresję receptorów dla oreksyny. Ekspresja OxR1 występuje zarówno w jądrze łukowatym, jak i jądrze okołokomorowym wspólnie z ekspresją somatostatyny, natomiast OxR2 w obrębie jądra łukowatego wspólnie z neuropeptydem Y. Wpływ oddziaływania oreksyn na sekrecję GH nie jest jednoznaczny. W przeprowadzonych do tej pory badaniach stwierdzano zarówno supresję, jak i pobudzenie wydzielania GH. Wykorzystanie komórek somatotropowych owcy pozwoliło na wykazanie, że oreksyny wspólnie z somatoliberyną zwiększają przepływ wapnia i wydzielanie GH. Zarówno oreksyna, jak i GHRH indywidualnie znacząco wzbudzają przepływ jonów wapnia przez zależne od potencjału kanały wapniowe typu L. Addycyjny efekt wpływu na prąd wapniowy był obser-

wowany przy ich jednoczesnym podaniu. Uważa się, że modyfikacja przepływu wapnia przez kanały typu L odbywa się nieco odmiennymi drogami. Oreksyny aktywują układ zależny od kinazy białkowej C (PKC, *protein kinase C*), potęgując tym samym aktywację kanałów typu L. Podanie samych oreksyn nie wpływało na wzrost wydzielania hormonu wzrostu, podczas gdy jednoczesowe podanie oreksyny A i GHRH było związane ze znacznie zwiększonym wydzielaniem GH w stosunku do sytuacji, gdy podawano wyłącznie GHRH. Można by przypuszczać, że wpływ oreksyn na wydzielanie GH wynika z faktu, że mogą zwiększać wrażliwość komórek somatotropowych na stymulację przez GHRH [27]. Z drugiej strony wykazywano, że podanie oreksyny powodowało spadek wydzielania GH u szczurów poddanych doświadczeniu [28]. Podanie oreksyny szczurom powodowało spadek spontanicznego wydzielania GH, natomiast *in vivo* nie zauważono zmiany odpowiedzi GH na GHRH pod wpływem oreksyn [29]. Obserwowano, że dokomorowe podanie oreksyny prowadzi do zablokowania wydzielania GH i odpowiedzi GH na grelinę [30]. Stymulacja wydzielania GH pod wpływem GHRH i greliny jest warunkowana przez odmienne mechanizmy, ale brak GHRH blokuje wpływ greliny na GH. Od kiedy odkryto neurony oreksynowe występujące w jądrze łukowatym, czyli tam, gdzie jest olbrzymia liczba neuronów GHRH, przypuszcza się, że oreksyny hamują napięcie endogenne GHRH. To mogłoby tłumaczyć hamujący wpływ oreksyn na podstawowe wydzielanie GH i odpowiedź GH na grelinę, jak również brak wpływu na modyfikację odpowiedzi GH na podanie egzogenne GHRH. Uważa się, że oreksyna może mieć hamujący wpływ na wydzielanie endogenne GHRH. W ten sposób oreksyna 1 odgrywa rolę w hamowaniu sekrecji GH. Ten neuropeptyd może być więc zaangażowany w kontrolę wydzielania GH i regulację odżywienia organizmu. Badacze sugerują, że układ oreksyn, szczególnie aktywny w ciągu dnia, wpływa hamująco na sekrecję GHRH, promując stan czuwania i redukując wydzielanie GH [27, 29, 30].

Oreksyny odgrywają także ważną rolę w regulacji wydzielania hormonów płciowych przez przysadkę. Wpływ na sekrecję lutropiny (LH, *luteinizing hormone*) odbywa się na drodze stymulacji neuronów hormonu uwalniającego gonadotropiny (GnRH, *gonadotropin releasing hormone*) w podwzgórzu. Udało się wykazać, że około 80% neuronów GnRH posiada połączenie z włóknami neuronów oreksynowych, a ekspresja receptorów oreksynowych jest wykazywana u około 85% neuronów GnRH [31]. Dodatkowo ci sami badacze wykazali obecność receptora NPY Y4 i włókien oreksynowych we wzajemnej relacji z neuronami GnRH. Stymulacja receptora Y4 wiąże się ze wzrostem sekre-

cji LH. Takie powiązania sugerują, że oreksyna może wpływać na sekrecję LH dwoma drogami, czyli bezpośrednio przez stymulację receptora OxR1 lub pośrednio, pobudzając receptor Y4. W badaniach wykazano stymulujący wpływ oreksyn na syntezę i wydzielanie LH u estrogenizowanych samic szczura oraz hamowanie sekrecji LH u szczurów podanych owarektomii [32]. Związek pomiędzy neuronami zawierającymi oreksyny i neuropeptyd jelitowy Y potwierdzono, wykazując, że antagonist receptoru Y1 NPY znosił *in vitro* uwalnianie GnRH stymulowane przez oreksynę [23]. Potwierdzeniem wpływu oreksyny na oś podwzgórze-przysadka-gonady są wyniki badań Koka i wsp. Wykazali oni obniżony poziom podstawowego wydzielania LH u osób z narkolepsją oraz prawidłową odpowiedź LH na stymulację pod wpływem GnRH [33]. Wyniki dostępnych badań wskazują, jak ważną rolę pełni oreksyna w regulacji wydzielania hormonów przez przysadkę.

Oreksyny pełnią rolę podtrzymującą stan czuwania. Przeprowadzone wyniki badań wskazują na zmienną aktywność neuronów oreksynowych w czasie doby. Największa ich czynność elektryczna występuje w czasie czuwania, a zwłaszcza poruszania się zwierząt, natomiast spada w momencie spoczynku i snu. Rola oreksyn w podtrzymaniu stanu czuwania wynika z ich bezpośredniego działania pobudzającego neurony zaangażowane w regulację stanu sen-czuwanie, jak i działania pośredniego, hamującego, związanego z pobudzeniem neuronów GABA-ergicznych [13, 34]. Bezpośrednią rolę regulującą aktywność neuronów oreksynowych pełni jądro nadskrzyżowaniowe podwzgórze (SCN, *suprachiasmatic nucleus*) — główny zegar biologiczny. Stężenie oreksyn w płynie mózgowo-rdzeniowym podlega regulacji dobowej i osiąga najniższą wartość pod koniec okresu czuwania. Rytm ten zanika u zwierząt z uszkodzonym SCN [13]. Związek oreksyn z regulacją stanu snu i czuwania został wykryty przypadkowo, podczas badań nad otyłością, w których oceniano wpływ oreksyn na przyjmowanie pokarmu u transgenicznych myszy (ich podwzgórze nie wytwarzało żadnych oreksyn). Zorientowano się, że obserwowane myszy nie tylko ograniczały ilość przyjmowanego pokarmu, ale także zastygały w bezruchu, przypominającym atak kataleptyczny. W celu weryfikacji uzyskanych spostrzeżeń przeprowadzono badania na wielu modelach zwierzęcych, oceniając układ oreksynowy. Okazało się, że zaburzenia o charakterze narkolepsji występują u zwierząt z dysfunkcją receptora OxR2. Wyniki badań na modelach zwierzęcych wykazały podłoże genetyczne tej choroby u psów, związane z mutacją w obrębie autosomalnego, recesywnego genu dla białka OxR2. Stężenie oreksyny w płynie

mózgowo-rdzeniowym oraz liczba włókien oreksynowych pozostaje natomiast bez zmian w stosunku do zwierząt zdrowych [35]. Z uwagi na duże podobieństwa między objawami narkolepsji występującymi u zwierząt pozbawionych receptora dla oreksyny 2, założono, że dysfunkcja układu oreksyn może mieć wpływ na występowanie narkolepsji u człowieka. W większości przebadanych przypadków narkolepsji u ludzi stwierdzono bardzo małe lub nawet niewykrywalne stężenie oreksyny 1 w płynie mózgowo-rdzeniowym [36, 37]. Wyniki badań przeprowadzonych wśród dużej liczby osób wykazały znacząco niższe stężenie oreksyny w płynie mózgowo-rdzeniowym niż u osób zdrowych [14]. W badaniach immunohistochemicznych przeprowadzonych *post mortem* oraz w badaniach z wykorzystaniem techniki hybrydyzacji *in situ* wykazano bardzo duży niedobór (sięgający nawet do 90%) perikarionów neuronów hipokretynowych [13].

W licznych badaniach ukazano złożoną rolę oreksyn w organizmie. Oprócz wymienionych uważa się, że odgrywają one rolę w regulacji wydzielania kwasu żołądkowego (drogą nerwu błędnego), aktywacji części współczulnej układu wegetatywnego czy też regulacji przyjmowania płynów. Ośrodkowe podanie oreksyny powoduje wzrost częstości akcji serca i ciśnienia tętniczego u szczurów [38]. Ostatnie doniesienia wskazują także na rolę układu oreksynowego w procesie uczenia i zapamiętywania bodźców mających wpływ

na układ nagrody [39]. Konsekwentnie oreksyny mogą być zaangażowane w proces uzależnienia od środków psychoaktywnych [40]. Wyniki licznych badań i związane z nimi obserwacje potwierdzają znaczącą rolę oreksyn w powrocie do zażywania substancji psychoaktywnych po okresie abstynencji [41]. Tym samym nasuwa się sugestia, że zastosowanie związków hamujących aktywność oreksyn mogłoby się przyczynić do leczenia uzależnień.

Podsumowanie

Wiele działań oreksyn nie zostało jeszcze odkrytych. Duża część mechanizmów działania, powiązań między poszczególnymi systemami regulowanymi przez układ oreksyn wymaga dopracowania, dokładnej analizy. Wiadomo jednak, że rola tych neuropeptydów w organizmie jest bardzo rozległa, a sam system oreksynowy podlega licznym regulacjom. Wynika to z faktu rozpowszechnienia oreksyn w organizmie oraz wpływu na wiele zachodzących w nim procesów. Badania nad rolą oreksyn będą nadal trwały, zwłaszcza, że stanowią one także doskonały element w zakresie poszukiwania nowych sposobów leczenia takich chorób, jak narkolepsja, zaburzenia syntezy hormonu wzrostu (niedobór i nadmiar) czy też leczenia uzależnień.

Piśmiennictwo

- Tahari S., Bloom S.: Orexins/hypocretins: waking up the scientific world. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. 2001; 54: 421–429.
- de Lecea L., Kilduff T.S., Peyron C. i wsp.: The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998; 95: 322–327.
- Sakurai T., Moriguchi I., Furuya K. i wsp.: Structure and function of human prepro-orexin gene. *J. Biol. Chem.* 1999; 274: 17771–17776.
- Sutcliffe J.G., de Lecea L.: The hypocretin: setting the arousal threshold. *Nat. Rev. Neurosci.* 2002; 3: 339–349.
- Kastin A.J., Akerstrom V.: Orexin A but not Orexin B rapidly enters brain from blood by simple diffusion. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1999; 289: 219–223.
- Ciriello J., Rosas-Arellano M.P., Solan-Flores L.P. i wsp.: Identification of neurons containing orexin-B (hypocretin-2) immunoreactivity in limbic structures. *Brain Res.* 2003; 967: 123–131.
- Data Y., Mondal M.S., Matsukura S. i wsp.: Distribution of orexin/hypocretin in the rat median eminence and pituitary. *Mol. Brain Res.* 2000; 76: 1–6.
- Reti I.M., Reddy R., Worley P.F. i wsp.: Selective expression of Narp, a secreted neuronal pentraxin, in orexin neurons. *J. Neurochem.* 2002; 82: 1561–1565.
- Kirchgessner A.L.: Orexin in brain-gut axis. *Endocr. Rev.* 2002; 23: 1–15.
- Zhu Y., Miwa Y., Yamanaka A. i wsp.: Orexin receptor type-1 couples exclusively to pertussis toxin-insensitive G proteins, while orexin receptor type-2 couples to both pertussis toxin-sensitive and insensitive G-proteins. *J. Pharmacol. Sci.* 2003; 92: 259–266.
- Smart D., Jermen J.C., Brough S.J. i wsp.: Characterization of recombinant human orexin receptor pharmacology in a chinese hamster ovary cell-line using FLIPR. *Br. J. Pharmacol.* 1999; 128: 1–3.
- Kukkonen J.P., Holmqvist T., Ammon S. i wsp.: Functions of the orexinergic/hypocretinergic system. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2002; 283: C1567–C1591.
- Berezińska M., Zawilska J.B.: Hipokretyny — rola w regulacji rytmu sen-czuwanie i patogenezie narkolepsji. *Post. Hig. Med. Dośw.* 2007; 61: 1–12.
- Martyńska L., Wolińska-Witort E., Chmielowska M. i wsp.: The physiological role of orexin. *Neuro. Endocrinol. Lett.* 2005; 26 (3): 289–292.
- Taylor M.M., Samson W.K.: The other side of orexins: endocrine and metabolic actions. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2003; 284: E13–17.
- Yamanaka A., Sakurai T., Katsumoto T. i wsp.: Chronic intracerebroventricular administration of orexin-A to rats increases food intake in daytime, but no effect on body weight. *Brain Res.* 1999; 849: 248–252.
- Beck B., Richy S.: Hypothalamic hypocretin/orexin and neuropeptide Y: divergent interaction with energy depletion and leptin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1999; 258: 119–122.
- Hakansson M., de Lecea L., Sutcliffe J.G. i wsp.: Leptin receptor- and STAT3-immunoreactivities in hypocretin/orexin neurons of the lateral hypothalamus. *J. Neuroendocrinol.* 1999; 11: 653–663.
- Takano S., Kanai S.: Orexin-A does not stimulate food intake in old rats. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2004; 28: G1182–11877.
- Kohno D., Gao H.Z.: Ghrelin directly interacts with neuropeptide-Y-containing neurons in the rat arcuate nucleus: Ca²⁺ signaling via protein kinase A and N-type channel-dependent mechanisms and cross-talk with lep-

- tin and orexin. *Diabetes* 2003; 52: 948–956.
21. Russell S.H., Kim M.S., Small C.J. i wsp.: Central administration of orexin A suppresses basal and domperidone stimulated plasma prolactin. *J. Neuroendocrinol.* 2000; 12: 1213–1218.
 22. Garcia M.C., Lopez M., Gualillo O. i wsp.: Hypothalamic levels of NPY, MCH, and prepro-orexin mRNA during pregnancy and lactation in the rat: role of prolactin. *FASEB J.* 2003; 15: 1392–1400.
 23. Russel S.H., Small C.J., Dakin C.L. i wsp.: The central effects of orexin-A in the hypothalamic-pituitary adrenal axis *in vivo* and *in vitro* in male rats. *J. Neuroendocrinol.* 2001; 13: 561–566.
 24. Jaszberenyi M., Bujdoso E., Pataki I. i wsp.: Effect of orexin on the hypothalamic-pituitary-adrenal system. *J. Neuroendocrinol.* 2001; 12: 1174–1178.
 25. Jöhren O., Neidert S.J., Kummer M. i wsp.: Prepro-orexin and orexin receptor mRNAs are differentially expressed in peripheral tissues of male and female rats. *Endocrinology* 2001; 142: 3324–3331.
 26. Kok S.W., Roelfdema F., Overeem S. i wsp.: Dynamics of the pituitary-adrenal ensemble in hypocretin-deficient narcoleptic humans: blunted basal adrenocorticotropin release and evidence for normal time-keeping by the master pacemaker. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2002; 87: 5085–5091.
 27. Xu R., Wang Q., Yan M. i wsp.: Orexin-A augments voltage-gated Ca²⁺ currents and synergistically increases growth hormone (GH) secretion with GH-releasing hormone in primary cultured ovine somatotropes. *Endocrinology* 2002; 143 (12): 4609–4619.
 28. Molik E., Zieba D.A., Misztal T. i wsp.: The role of orexin A in the control of prolactin and growth hormone secretions in sheep — *in vitro* study. *J. Physiol. Pharmacol.* 2008; 9: 91–100.
 29. Chen C., Xu R.: The *in vitro* regulation of growth hormone secretion by orexins. *Endocrine.* 2003; 22: 57–66.
 30. Seoane L.M., Tovar S.A.: Orexin A suppresses *in vivo* GH secretion. *Eur. J. Endocrinol.* 2004; 150: 731–736.
 31. Campbell R.E., Grove K.L., Smith M.S.: Gonadotropin-releasing hormone neurons coexpress orexin 1 receptor immunoreactivity and receive direct contacts by orexin fibers. *Endocrinology* 2003; 144: 1542–1548.
 32. Small C.J., Goubillon M.L., Murray J.F. i wsp.: Central orexin A has site specific effects on luteinizing hormone release in female rats. *Endocrinology* 2003; 144: 3225–3236.
 33. Kok S.W., Roelfsema F., Overeema S. i wsp.: Pulsatile LH release is diminished, while FSH secretion is normal in hypocretin deficient narcoleptic men. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2004; 287: E630–E636.
 34. van den Pol A.N., Gao X.B., Obrietan K. i wsp.: Presynaptic and postsynaptic actions and modulation of neuroendocrine neurons by a new hypothalamic peptide, hypocretin/orexin. *J. Neurosci.* 1998; 18: 7962–7971.
 35. Lin L., Faraco J., Li R. i wsp.: The sleep disorder canine narcolepsy is caused by a mutation in the hypocretin (orexin) receptor 2 gene. *Cell* 1999; 98: 365–376.
 36. Nishino S., Ripley B., Overeem S. i wsp.: Hypocretin (orexin) deficiency in human narcolepsy. *Lancet* 2000; 355: 139–140.
 37. Tahari S., Ward H., Ghatei M. i wsp.: Role of orexins in sleep and arousal mechanisms. *Lancet* 2000; 355: 847.
 38. Samson W.K., Gosnell B., Chang J.K. i wsp.: Cardiovascular regulatory actions of the hypocretins in brain. *Brain Res.* 1999; 831: 248–253.
 39. Aston-Jones G., Smith R.J., Moorman D.E.: Role of lateral hypothalamic orexin neurons in reward processing and addiction. *Neuropharmacology* 2009; 281: 834–842.
 40. Harris G.C., Aston-Jones G.: Arousal and reward: a dichotomy in orexin function. *Trends Neurosci.* 2006; 29: 571–577.
 41. Zawilska J.B., Biegańska K., Milanowska M. i wsp.: Hipokretyny (oreksyny) — rola w uzależnieniach od substancji psychoaktywnych. *Neuropsychiatria i Neuropsychologia* 2010; 5: 1–9.