

Praca poglądowa Review

ARTUR PAŁASZ¹, RAFAŁ SKOWRONEK², MAREK KRZYSTANEK³, KATARZYNA BOGUS¹,
ALEKSANDRA BRYZEK¹, RYSZARD WIADERKIEWICZ¹, ALICJA KOST¹

Almoreksant, antagonist receptorów oreksynergicznych mózgu w leczeniu zaburzeń snu

Almorexant, an antagonist of the brain orexinergic receptors in the therapy of sleep disorders

¹Zakład Histologii, Katedra Morfologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

²Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Histologii Katedry Morfologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

³Katedra i Klinika Psychiatrii i Psychoterapii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

STRESZCZENIE

Zaburzenia snu stanowią w obecnej chwili poważny problem medyczny i społeczny. Nieprawidłowa farmakoterapia bezsenności może być niebezpieczna dla zdrowia i nierzadko prowadzi do rozwoju lekozależności. Zidentyfikowane w wielu strukturach OUN oreksyny i ich receptory OX1R i OX2R odgrywają kluczową rolę w kontroli stanów snu i czuwania. Synteza almoreksantu, dualnego antagonisty receptorów oreksynergicznych (DORAs), stanowiła duży postęp w leczeniu dysfunkcji snu. Co szczególnie istotne, ten eksperymentalny lek, w przeciwieństwie do agonistów GABA, nie zaburzał architektury snu. Mimo szeregu zalet almoreksantu, w styczniu 2011 roku firmy farmaceutyczne wstrzymały jego dalsze badania kliniczne ze względu na niekorzystny profil tolerancji. Należy wziąć też pod uwagę, że deficyt transmisji oreksynergicznej mózgu, typowy dla narkolepsji, mógłby być korygowany zastosowaniem selektywnych agonistów receptorów oreksynergicznych.

SUMMARY

The sleep disturbances are at present a serious medical and social problems. The inappropriate pharmacotherapy of insomnia may be dangerous to health and apart from that usually cause a drug dependence. Orexines and their receptors OX1R, OX2R identified in many structures of the central nervous system play a crucial role in the control of sleep/wake states in humans. Synthesis of almorexant, the double antagonist of orexinergic receptors (DORAs), seemed to be a great progress in the treatment of sleep disorders. It is uniquely important that this experimental drug as opposed to GABA agonists do not disturb the sleep architecture. In spite of its many advantages, pharmaceutical companies abandoned further research, because of its unfavourable tolerability profile. It should be also taken into consideration that the deficit of the brain orexinergic transmission playing an essential role in the pathogenesis of narcolepsy would be corrected by the selective agonists of orexinergic receptors.

Słowa kluczowe: almoreksant, oreksyny, receptory oreksynergiczne, zaburzenia snu

Key words: almorexant, orexins, orexinergic receptors, sleep disorders

WSTĘP

Sen jest zjawiskiem koniecznym dla zachowania prawidłowego przebiegu niemal wszystkich funkcji fizjologicznych organizmu, umożliwia konsolidację pamięci, zapewnia utrzymanie sprawności ruchowej, warunkuje zachowanie homeostazy energetycznej, dodatnio wpły-

wa na procesy odpowiedzi immunologicznej, stanowiąc niezbędny element zdrowia fizycznego i psychicznego. Pozbawienie snu, lub jego niewystarczająca długość związane są ściśle ze zwiększonym ryzykiem chorób układu nerwowego i sercowo-naczyniowego.

Bezsenność jest obecnie zjawiskiem powszechnym – około 1/3 populacji ogólnej spełnia przynaj-

mniej jedno kryterium rozpoznania bezsenności według klasyfikacji DSM-IV (Ohayon, 2002). Tryb życia współczesnego człowieka wiąże się z niedoborem snu, przewlekłym narażeniem na stres, pośpiechem, utrwalonymi zaburzeniami rytmu okołodobowego spowodowanymi: niską ekspozycją na światło słoneczne w ciągu dnia, nadmierną ekspozycją na sztuczne oświetlenie wieczorem, zmiennymi porami posiłków, relaksu i pracy oraz niską aktywnością fizyczną.

Aktualna Międzynarodowa Klasyfikacja Zaburzeń Snu American Academy of Sleep Medicine (ICSD-2) wyróżnia następujące grupy zaburzeń: bezsenność, zaburzenia oddychania związane ze snem, hypersomnia, zaburzenia rytmu okołodobowego, parasomnia, zaburzenia ruchowe związane ze snem, zaburzenia snu dzieci i inne zaburzenia snu – w sumie 88 różnych schorzeń. Ta różnorodność wymaga odmiennego, zindywidualizowanego podejścia, zarówno na etapie diagnostyki, jak i terapii.

W leczeniu bezsenności istotną rolę odgrywa prawidłowa higiena snu, czyli wypracowanie odpowiednich nawyków. Zastosowanie znajduje też terapia behawioralna, głównie kontrola bodźców i restrykcja snu. Farmakoterapia, oparta o leki nasenne (hipnotyczne), powinna być prowadzona możliwie jak najkrócej (kilka tygodni). Szeroką gamę działań niepożądanych, takie jak amnezja następcza, objawy rezydualne następnego dnia, bezsenność (z odbicia), bóle i zawroty głowy, nudności i wymioty, zmęczenie, suchość błon śluzowych, zmiany hematologiczne, nierzadko zmuszają do ich odstawienia. Szczególnym zagrożeniem związanym z nieprawidłowym, tzn. zbyt częstym i zbyt długim stosowaniem klasycznych benzodiazepin, ale także niebenzodiazepinowych agonistów receptora GABA_A – jest rozwój lekozależności z możliwością wystąpienia pełnoobjawowego zespołu abstynencyjnego, która wymaga powolnego odstawienia leku oraz dalszego specjalistycznego postępowania terapeutycznego po detoksykacji. Rozpowszechnienie zaburzeń snu i czuwania zmusza do poszukiwania nowych, bardziej wybiórczych i bezpiecznych leków. Jednym z nich jest ramelteon – lek zarejestrowany przez FDA w 2005 roku do leczenia bezsenności, reprezentujący zupełnie nowy mechanizm działania jako agonista receptorów melatoninowych, kolejnym omawiany w niniejszym artykule jest almoreksant – antagonistą receptorów oreksynergicznych.

Kontrola stanów snu i czuwania jest niezwykle złożonym procesem neurofizjologicznym, w którego realizację zaangażowane są liczne szlaki neuronalne wchodzące w skład wielu, często dość odległych topograficznie struktur mózgu. Istotną rolę w owym zjawisku odgrywa ograniczona w przestrzeni i relatywnie nieliczna grupa neuronów podwzgórza syntezujących i uwalniających

oreksyny (hipokretyny), neuropeptydy o szerokim spektrum aktywności regulatorowej w SNC (Nishino, 2011; Sakurai i wsp., 2010; Chen i wsp., 2010; Diniz Behn i wsp., 2010). Neurony oreksynergiczne zlokalizowane są niemal wyłącznie w okolicy okołosklepieniowej oraz bocznym i tylnym obszarze podwzgórza skąd oddają liczne projekcje aksonalne zmierzające do wielu struktur mózgowia, ze szczególnym wyróżnieniem jądra łukowatego, przykomorowego i jądra guzowo suteczkowego podwzgórza, jąder szwu, a także jądra pasma samotnego, miejsca sinawego i hipokampa (Torrealba i wsp., 2003; Tsujino i Samuraj, 2009). Ujawniono również ich obecność w jądrze centralnym ciała migdałowatego i opuszce węchowej. Komórki te charakteryzują się ponadto koekspresją galaniny dynorfiny i prolaktyny nie są natomiast zdolne do syntezy GABA (Hakanson i wsp., 1999; Risold i wsp., 1999; Chou i wsp., 2001; Rosin i wsp., 2003). Źródłem włókien zaopatrujących neurony oreksynergiczne są przede wszystkim jądra podwzgórza i ośrodki pnia mózgu, niemniej docierają do nich również projekcje z ciała migdałowatego. Aksony biegnące z brzuszno-bocznego jądra przedwzrostkowego (VLPO), jądra łukowatego bocznego, jądra okoloramieniowego, jądra grzbietowo-przyśrodkowego oraz bocznego podwzgórza docierają do komórek okolicy okołosklepieniowej, natomiast większość aksonów, wychodzących z jąder szwu i miejsca sinawego, zmierza do perykarionów bocznego podwzgórza. Kluczową rolę w regulacji aktywności komórek oreksynergicznych odgrywają neurotransmitery uwalniane przez aksony aminergicznych neuronów pnia mózgu. Zarówno serotonina jak i noradrenalina, działając za pośrednictwem receptorów odpowiednio; 5HT_{1A} oraz α_2 hamują je drogą hiperpolaryzacji spowodowanej otwarciem dokomórkowych prostujących kanałów potasowych GIRK lub K_{ir3} (Muraki i wsp., 2004; Yamanaka i wsp., 2006). Identyczny efekt wywiera również dopamina będąca w tym wypadku ligandem receptora adrenergicznego α_2 , albowiem neurony oreksynergiczne są pozbawione funkcjonalnych receptorów dopaminergicznych, wykazują natomiast ekspresję muskarynowych receptorów cholinergicznych M₃ (Yamanaka i wsp., 2003). Neurony oreksynergiczne są również tonicznie aktywowane przez neurony glutaminergiczne i jednocześnie hamowane przez neurony GABA-ergiczne zlokalizowane w VLPO (Li i wsp., 2002; Xie i wsp., 2006; Matsuki i wsp., 2009).

SYGNALIZACJA OREKSYNERGICZNA W REGULACJI STANÓW SNU I CZUWANIA

Oreksyny A i B, znane również jako hipokretyny (Hcrt) 1 i 2, po raz pierwszy zidentyfikowano w mó-

zgu ssaków w ostatnich latach 90. ubiegłego stulecia. Warto podkreślić fakt, iż nie wykazują one podobieństwa strukturalnego do innych neuropeptydów, stanowiąc odrębną rodzinę czynników regulacyjnych układu nerwowego (Ohno i Samuraj, 2008). Oreksyna A jest peptydem (3662 kDa) zbudowanym z 33 aminokwasów, posiadającym w swej cząsteczce 2 mostki dwusiarczkowe (Cys6-Cys12 i Cys7-Cys14). Pierwszorzędowa struktura oreksyny A jest niezwykle konserwatywna pomiędzy gatunkami kręgowców; identyczna u wielu gatunków ssaków i człowieka. Oreksyna B jest natomiast liniową cząsteczką 28-aminokwasową (2937 kDa), zachowującą również wysoki stopień strukturalnej homologii międzygatunkowej. Obydwie oreksyny są pochodnymi jednego prekursora polipeptydowego prepro-oreksyny, powstałymi w wyniku potranslacyjnej aktywności konwertaz. Oreksyna A charakteryzuje się wyższą trwałością w płynie mózgowo-rdzeniowym i krwi aniżeli oreksyna B, jest też od niej bardziej lipofilna. Stężenie oreksyny B w mózgu jest natomiast 2-5 krotnie większe w porównaniu z oreksyną A (Ohno i Samuraj, 2008). W strukturach mózgu zidentyfikowano dwie, odmienne formy receptorów dla oreksyn, znane jako OX_1R i OX_2R , obydwie występują w postaci 7 domen transbłonowych. Strukturalna identyczność pomiędzy nimi wynosi u człowieka 64%. Cząsteczki receptorów OXR wykazują znaczącą homologię sekwencji aminokwasowych pomiędzy gatunkami ssaków, w przypadku człowieka i szczura wynosi ona 94% dla OX_1R i 95% dla OX_2R . Receptor OX_1R charakteryzuje się większym powinowactwem dla oreksyny A aniżeli oreksyny B, natomiast OX_2R wykazuje identyczną preferencję dla obydwu peptydów (Kukkonen i wsp., 2002). Receptor OX_1R jest sprzężony z białkiem Gq, zatem efektem jego pobudzenia jest aktywacja fosfolipazy C, synteza DAG i IP3 i uwolnienie wapnia z SER, co prowadzi do depolaryzacji neuronu. Pozakomórkowe jony wapnia mogą również napływać alternatywną drogą poprzez nieselektywny kanał kationowy w błonie neuronu, otwierany przy udziale Gq. W odróżnieniu od OX_1R , receptor OX_2R jest sprzężony zarówno z białkiem Gq jak i Gi/o. W przypadku aktywacji białka Gi następuje otwarcie kanałów potasowych GIRK, wypływ jonów K^+ z neuronu i jego hiperpolaryzacja (Gorjankina i wsp., 2008; Tang i wsp., 2008).

Receptory oreksynergiczne są szeroko rozpowszechnione w wielu strukturach ośrodkowego układu nerwowego, gdzie uczestniczą w autonomicznej regulacji wielu kluczowych procesów jak sen, pamięć i homeostaza energetyczna, a także emocje i układu nagrody. Ekspresja OX_1R jest obserwowana w korze przedczołowej i śródlimbiczej, hipokampie (CA1),

ciele migdałowatym, jądrze blaszki krańcowej (BST), jądrze przykomorowym wzgórza (PVN), przednim podwzgórzem, grzbietowym szwie (DR), polu brzuszno-nakrywki (VTA) oraz jądrach boczno-grzbietowym (LDT) i konarowo-mostowym nakrywki (PPT). Receptor OX_2R jest natomiast obecny w jądrze guzowo-suteczki (TMN), jądrze łukowatym, jądrze grzbietowo-przyśrodkowym i przykomorowym podwzgórza, LHA, hipokampie (CA3) i jądrze przyśrodkowym przegrody. Zidentyfikowano go również w ciele migdałowatym, BST, jądrze przykomorowym wzgórza, DR, VTA, LDT i PPT, gdzie występuje wspólnie z OX_1R (Trivedi i wsp., 1998; Lu i wsp., 2000; Marcus i wsp., 2001).

Precyzyjna kontrola relacji sen-czuwanie realizuje się przede wszystkim poprzez wzajemne oddziaływanie pomiędzy ośrodkami podwzgórza i pnia mózgu, umożliwiając przełączanie tych obydwu stanów między sobą. Aktywne w czasie snu neurony VLPO wysyłają liczne projekcje hamujące do odpowiedzialnych za utrzymanie stanu czuwania, bogatych w noradrenalinę, serotoninę, acetylocholinę i histaminę jąder pnia mózgu (Sherin i wsp., 1998; Saper i wsp., 2005; Tsujino i Samuraj, 2009). Komórki te charakteryzuje szybkie tempo generowania potencjałów czynnościowych w czasie snu, natomiast spowolnione w czasie czuwania. Wykazują one ekspresję GABA i galaniny, a ich aktywność jest hamowana przez noradrenalinę i acetylocholinę syntezowaną przez neurony pnia mózgu. Sugeruje się, iż aktywność neuronów VLPO w czasie snu zapobiega zainicjowaniu zależnego od amin biogennych procesu wybudzania (Gallopini i wsp. 2000, Yoshida i wsp. 2006). Istotnym jest fakt, że do pola przedwzrokowego podwzgórza dochodzą bardzo liczne aksony neuronów oreksynergicznych, wyłączenie aktywności owych komórek w czasie snu jest najprawdopodobniej efektem ich hamowania przez projekcje dochodzące z VLPO (Matsuki i wsp. 2009). Kluczową rolę w utrzymywaniu stanu wybudzenia pełnią zsynchronizowane ze sobą neurony TMN, LC i DR. Wykazują one toniczne wyładowania w czasie trwania tego procesu, znacznie mniej nasilone podczas fazy snu NREM i niemal wyciszone podczas fazy REM (Saper i wsp., 2005; Kantor i wsp., 2009). Można zatem założyć, że neurony oreksynergiczne aktywują się w czasie wybudzania i milkną w czasie snu. Co więcej, neurony DR, LC i TMN charakteryzują się ekspresją receptorów oreksynergicznych, w przypadku LC dominującą pozycję zajmują OX_1R , w TMN natomiast OX_2R (Willie i wsp., 2001). Zaobserwowano również, że oreksyny są czynnikami aktywującymi komórki noradrenergiczne LC, dopaminergiczne VTA, serotoninerdyczne DR i hista-

minergiczne TMN (Brown i wsp., 2002; Yamanaka i wsp., 2002). Wywierają one ponadto silnie pobudzający wpływ na neurony cholinergiczne zlokalizowane w BF, LDT i PP, zaangażowane w regulację procesu wybudzania (Takahashi i wsp., 2002). Pojawiają się również doniesienia sugerujące, że oreksyna A może hamować neurony cholinergiczne PPT w sposób pośredni drogą aktywacji lokalnych interneuronów i komórek części siatkowatej istoty czarnej, wykazujących ekspresję GABA (Takakusaki i wsp., 2005). Zatem neurony oreksynergiczne podwzgórza regulując aktywność neuronów cholinergicznych LDT/PPT, mogą kontrolować stany czuwania i snu REM. Z drugiej strony one same przyjmują aferenty z komórek cholinergicznych BF, prawdopodobnie odpowiedzialne za utrwalenie w czasie stanu czuwania. Neurony oreksynergiczne są również celem hamujących aksonów serotonergicznym i noradrenergicznym, których zadaniem jest zapewne czynnościowa stabilizacja tej populacji komórek. Niestety, delikatny mechanizm przechodzenia snu w czuwanie i *vice versa* jest narażony na nagłe, fizjologicznie niepożądane zakłócenia. Neurony oreksynergiczne są morfologicznie usytuowane pomiędzy ośrodkiem promującym sen (VLPO) a warunkującymi stan czuwania okolicami pnia mózgu. Tworzą one osobliwe ogniwo spajające podwzgórze i pień mózgu, którego zadaniem jest aktywacja okolic podtrzymujących stan czuwania i zapobieganie niechcianemu zapadnięciu w sen. Dysfunkcja lub utrata tych komórek skutkuje skrajną niestabilnością stanu czuwania, będącą podstawowym objawem narkolepsji (Peyron i wsp., 2000; Thannickal i wsp., 2000). Schorzenie to charakteryzuje się bowiem daleko idącą dezorganizacją kontroli snu i świadomości, którego klinicznym efektem jest nagłe, przyjmujące formę epizodycznych ataków, przymusowe zasypianie, doznawane przez pacjenta w najmniej oczekiwanych i zaskakujących momentach. Niekiedy towarzyszy mu zjawisko katapleksji, polegające na szybko postępującej utracie napięcia mięśni posturalnych prowadzącej do ich zwiotczenia, co zwykle powoduje upadek chorego. Obydwa objawy są często wyzwalane bodźcami o charakterze emocjonalnym. Hipotezy sugerujące istotny udział oreksyn w patogenezie narkolepsji zostały opracowane w oparciu o badania myszy i psów pozbawionych genu preprooreksyny, okazało się bowiem, że zwierzęta te manifestowały szereg objawów niezwykle zbliżonych do narkolepsji obserwowanej u ludzi (Lin i wsp., 1999; Tsujino i Samurai, 2009). Badania *post mortem* mózgow pacjentów cierpiących na narkolepsję ujawniły bardzo znaczną redukcję (nie mniej niż 80%) lub nawet zupełny zanik neuronów oreksynergicznych w pod-

wzgórzu, którym towarzyszył brak ekspresji oreksyn w korze mózgu i moście oraz nieoznaczalny poziom oreksyny A w płynie mózgowo-rdzeniowym (Mignot i wsp., 2005).

ALMOREKSANT – CHARAKTERYSTYKA OGÓLNA

Udział transmisji oreksynergicznej (hipokretynowej) w fizjologicznej regulacji snu i czuwania oraz jej zaburzeniach zwrócił uwagę badaczy jako potencjalne miejsce modulacji farmakologicznej. Rozpoczęto intensywne badania potencjalnych antagonistów receptorów oreksynergicznych: OX_1R i OX_2R , które hamowałyby struktury mózgu odpowiedzialne za proces wybudzania (Bingham i wsp., 2006). Spośród wielu badanych związków najbardziej zaawansowanym badaniom został poddany podwójny (nieselektywny) antagonist receptorów oreksynergicznych (*Dual Orexin Receptor Antagonist, DORA*) – almoreksant (ACT-078573).

Pod względem struktury chemicznej almoreksant to: (2R)-2-[(1S)-6,7-dimetoksy-1-{2-[4-(trifluorometyl)fenyl]etyl}-3,4-dihydroisochinolono-2(1H)-yl]-N-metylo-2-fenyletanamid. Jego okres półtrwania w organizmie zawiera się w granicach od 6 do 19 godzin. Wiążąc się z receptorami OXR w stężeniach nanomolarnych, zapobiega ich pobudzeniu przez endogenne oreksyny i uruchomieniu ścieżek sygnałowych, prowadzących m. in. do mobilizacji wewnątrzkomórkowego Ca^{2+} . Badania Malherbe i wsp (2010) wykazały, że almoreksant jest kompetytywnym antagonistą receptora OX_1 i niekompetytywnym antagonistą receptora OX_2 . W stosunku do OX_1R , lek ten cechuje szybki stopień asocjacji i dysocjacji, natomiast w stosunku do OX_2R – szybki stopień asocjacji i znacznie wolniejszy stopień dysocjacji. Zaletą almoreksantu jest również doustna droga podania – jest dostępny w tabletkach i kapsułkach. Obydwie postaci leku charakteryzuje zbliżone bezpieczeństwo, tolerancja, farmakokinetyka i farmakodynamika (Hoch i wsp., 2010b).

ALMOREKSANT – BADANIA NA ZWIERZĘTACH

Almoreksant indukuje senność i promuje sen u szczurów, psów i ludzi. Podawany w aktywnym okresie rytmu dobowego, u zwierząt zmniejsza aktywność ruchową i stymuluje zarówno sen NREM, jak i REM, w przeciwieństwie do $GABA_A$ -modulatorów. Wydłuże-

nie fazy NREM jest w tym przypadku istotnie wyższe w stosunku do grupy przyjmującej placebo. Efekt ten nie występuje natomiast w przypadku podawania leku w fazie spoczynku. Almoreksant u żadnego z gatunków nie wywołuje typowego dla narkolepsji stanu katapleksji (Brisbare-Roch i wsp., 2007, 2008).

Istnienie dwóch odmiennych receptorów oreksynergicznych oraz ich zróżnicowana dystrybucja w mózgu wydaje się mieć potencjalne znaczenie w procesach regulacji snu i czuwania. Również dane elektrofizjologiczne sugerują, że OX_2R jest ważniejszy niż OX_1R w pośredniczeniu efektu oreksyny-A na wolne wyladowania dopaminergicznych neuronów brzuszego pola nakrywkowego śródmózgowia (Malherbe i wsp., 2009). Dugovic i wsp. (2008) podawali szczurom selektywnego antagonistę receptorów OX_1 (SB-334867 w dawce 30 mg/kg s.c.) i OX_2 (JNJ-10397049 w dawkach 0,3-30 mg/kg s.c. lub 50-100 mg/kg p.o.) oraz almoreksant (w dawce 100-300 mg/kg p.o.). W przeciwieństwie do almoreksantu, SB-334867 nie wykazywał u szczurów działania nasennego po podaniu w fazie jasnej i ciemnej. Okazało się natomiast, że JNJ-10397049 już w dawce 3 mg/kg s.c. indukował i promował sen niezależnie od fazy dnia. Można zatem wnioskować, że efekty nasenne antagonistów receptorów oreksynergicznych są mediowane przez głównie przez receptor OX_2R .

W innym badaniu (Dugovic i wsp., 2009b) zaobserwowano, że almoreksant – zgodnie z hipotezą ośrodkowej deaktywacji histaminergicznej jako procesu niezbędnego dla stanu snu – obniża pozakomórkowe stężenie histaminy w bocznym podwzgórzu, natomiast zwiększa, podobnie jak SB-408124, uwalnianie dopaminy w korze przedczołowej. Zastosowanie selektywnego antagonisty receptora OX_2 , łącznie z selektywnym antagonistą receptora OX_1 , znacznie zmniejszało jego efekt nasenny, prawdopodobnie poprzez wpływ na neurotransmisję dopaminergiczną. Być może właśnie w ten sposób należy tłumaczyć dziesięć razy silniejsze działanie nasenne selektywnego antagonisty OX_2R , w porównaniu do DORA (Dugovic i wsp., 2009a).

Almoreksant, hamując transmisję oreksynergiczną, zmniejsza u szczurów wywołaną doświadczalnie przez podanie bikukuliny – antagonisty receptora $GABA_A$ – aktywację motoneuronów jądra nerwu podjęzykowego (XII). Komórki te uczestniczą w regulacji drożności górnych dróg oddechowych, która jest zaburzona u osób z zespołem obturacyjnych bezdechów sennych – częstą przyczyną zaburzeń snu (Fenik i wsp., 2009).

Neurony oreksygeniczne odgrywają istotną rolę w mechanizmie ośrodkowej chemorecepcji CO_2/H^+ .

Blokada OX_1R w najważniejszych okolicach chemo-recepcyjnych mózgu: RTN (*retrotrapezoid nucleus*) i jądrach szwu powoduje redukcję odpowiedzi na CO_2 , o odpowiednio 30 i 16%. Li i Nattie (2010) postawili hipotezę, że blokada receptorów oreksynergicznych przez DORAs osłabia odpowiedź na CO_2 w stanie czuwania w sposób zależny od rytmu dobowego. Eksperymentalnie stwierdzili, że almoreksant zmniejszał odpowiedź oddechową na CO_2 o 26% jedynie w stanie czuwania podczas fazy ciemnej/aktywnej cyklu dobowego, do poziomu obserwowanego podczas snu NREM w trakcie fazy jasnej/nieaktywnej u szczurów kontrolnych. Podobne obserwacje dotyczyły myszy z wyciszonym genem preprooreksyny (ORX-KO). Almoreksant obniżał czujność i wydłużał sen NREM i REM w trakcie fazy ciemnej. Nieoczekiwanie okazało się, że lek redukował liczbę westchnień i bezdechów podczas stanu czuwania, zarówno w fazie jasnej jak i ciemnej oraz w trakcie snu NREM w fazie ciemnej, co z jednej strony dowodzi udziału transmisji oreksynergicznej w regulacji oddychania, chemorecepcji i wzdychania, ale z drugiej strony wymaga dalszych badań m. in. w celu wyjaśnienia różnic w odpowiedzi oddechowej na hiperkapnię w zależności od rytmu sen-czuwanie.

Istotnym problemem farmakoterapii psychiatrycznej są długotrwałe skutki podawania leku: objawy z odbicia, tolerancja oraz ryzyko rozwoju zależności. W modelu zwierzęcym, po pięciodniowej terapii almoreksantem, nie stwierdzono objawów odstawienia i z odbicia. Brisbare-Roch i wsp. (2010) postanowili sprawdzić, czy objawy te będą obecne u szczurów po sześciotygodniowym podawaniu jednej dawki almoreksantu dziennie (100 mg/kg p.o.) i tygodniowym okresie odstawienia. Wpływ leku (obniżenie aktywności ruchowej i czuwania, zwiększenie czasu snu NREM i REM w fizjologicznych proporcjach) utrzymywał się przez cały okres terapii. Zapisy EEG/EMG nie wykazały epizodów katapleksji i intruzji snu REM. Nie stwierdzono również przyrostu masy ciała. Po odstawieniu leku zwierzęta powracały do rytmu okołodobowego sprzed terapii. Nie obserwowano objawów tolerancji i objawów z odbicia.

Niepożądanym działaniem $GABA_A$ -modulatorów jest sedacja i zwiotczenie mięśni szkieletowych, zwłaszcza w sytuacji równoczesnego spożycia alkoholu, co upośledza m. in. prowadzenie pojazdów mechanicznych. Dokonano porównania wpływu almoreksantu i zolpidemu, niezależnie lub w połączeniu z alkoholem, na zdolności motoryczne szczurów. Zwierzętom, 30 minut przed wykonaniem testów, podawano leki w dawkach: almoreksant – 30, 100, 300 mg/kg, p.o., a zolpidem – 10, 30, 100 mg/kg,

p.o. Piętnaście minut później podawano placebo lub etanol (0,32, 1, 1,5 g/kg, i.p.). Zolpidem i alkohol, osobno i razem obniżały wyniki obu testów, natomiast sam almoreksant poprawiał je. Łączne podanie leku z etanolem niwelowało jego korzystne efekty, lecz wyniki nie były gorsze niż po podaniu samego etanolu. W przeciwieństwie do zolpidemu, almoreksant nie wywołuje więc niepożądanego sedacji i nadmiernej miorelaksacji (Steiner i wsp., 2011).

Co warte uwagi, najnowsze doniesienia sugerują, że oprócz działania nasennego, almoreksant wykazuje również działanie przeciwdepresyjne. Nollet i wsp. (2011) podawali almoreksant myszom, które następnie uczestniczyły w tzw. tail suspension test (TST) – powszechnie wykorzystywanym teście służącym do oceny efektów przeciwdepresyjnych u myszy, w którym ocenia się czas trwania bezruchu interpretowanego jako behawioralna oznaka rozpacz (Nollet i wsp., 2011). Lek lub placebo były podawane godzinę przed testem (n=14) lub przez 28 dni, poprzedzających właściwy eksperyment (n=14). Okazało się, że almoreksant znacząco skracał czas trwania bezruchu, ale tylko w grupie zwierząt, którym lek podawano przewlekle. Zaobserwowane efekty blokady receptorów oreksynergicznego przemawiają za zaangażowaniem układu oreksynergicznego w patogenese depresji i sugerują nowe, potencjalne możliwości farmakomodulacji.

ALMOREKSANT – BADANIA KLINICZNE

Almoreksant podany ludziom prezentuje prawidłowości zbliżone do tych obserwowanych u zwierząt. Podawany w godzinach rannych w dawkach 1-1000 mg wyzwał objawy (elektrofizjologiczne) i subiektywne objawy snu. Przy maksymalnej dawce (1000 mg) lek powodował senność przez 6,5 h. Niekiedy u badanych osób występowało uczucie zmęczenia, redukcja koncentracji, zawroty głowy i podwójne widzenie (Brisbare-Roch i wsp., 2008).

Dingemans i wsp. (2007) w ramach wielośrodkowego, randomizowanego, skrzyżowanego eksperymentu klinicznego z placebo zbadali 161 osób z bezsennością pierwotną. Do badania włączone zostały osoby z całkowitym czasem snu < 6 h i LPS > 20 minut. Efekty oceniano polisomnograficznie (PSG) podczas dwóch kolejnych nocy. Stwierdzono dawkozależną (50, 100, 200 i 400 mg) poprawę pierwotnego punktu końcowego – efektywności snu (czasu snu podzielonego przez czas spędzony w łóżku), LPS oraz przebudzenia po początku snu (Wake After Sleep Onset, WASO). Nie zaobserwowano objawów intruzji

snu REM (porażeń przysennych i halucynacji) podczas przebudzania oraz istotnych zaburzeń następnego dnia (Dingemans i wsp., 2007; Sateia i Busse, 2010).

Hoever i wsp. (2010) w podwójnie ślepych, aktywnie kontrolowanym badaniu z placebo poddali analizie tolerancję, farmakokinetykę i farmakodynamikę pojedynczej dawki almoreksantu (1, 5, 25, 100, 200, 400 i 1000 g) w porównaniu do zolpidemu (10 mg) oraz placebo. Do badania włączono 70 zdrowych mężczyzn. Czas stężenia maksymalnego (t_{max}) wynosił 0,7-2,3 h. Początek działania obserwowano w ciągu 1 godziny od przyjęcia, maksymalne efekty – 2-3 godzin, a ustępowanie między 6-10 godziną. Stężenie leku w osoczu w ciągu 8 godzin zmniejszało się do około 20%. Almoreksant był dobrze tolerowany bez objawów katapleksji. Najczęściej notowano: senność, zmęczenie, ból i zawroty głowy, podwójne widzenie. Efekty te ujawniały się po zastosowaniu dawki co najmniej 200 mg i nasilały się wraz z jej zwiększaniem. Czujność, zdolności wzrokowo-motoryczne oraz zdolności motoryczne ulegały redukcji po administracji zolpidemu w dawce 10 mg oraz almoreksantu w dawce 400 mg i większych. Modelowanie farmakokinetyczno/farmakodynamiczne wykazało, że almoreksant w dawce około 500 mg i zolpidem w dawce 10 mg są ekwiwalentne.

W innym badaniu poddano ocenie farmakokinetykę, farmakodynamikę, bezpieczeństwo i tolerancję wielokrotnego zażywania almoreksantu u zdrowych osób. Lek w dawkach: 100, 200, 400 i 1000 mg był podawany codziennie rano (dni 1-4) i wieczorem (dni 5-6). Bezpieczeństwo i testy farmakodynamiczne (szczytowa szybkość sakadyczna – SPV, adaptacyjne śledzenie, kołysanie ciała i subiektywna czujność) były oceniane w regularnych odstępach czasowych. Czas stężenia maksymalnego (t_{max}) wynosił 1,0-1,5 h. Lek był dobrze tolerowany i nie wywoływał poważnych działań niepożądanych. Efekty pojawiały się w ciągu 0,5-1 h, maksimum osiągały około 2 h i ustępowały w ciągu 4-8 h. Nie stwierdzono istotnej akumulacji (stężenie leku w osoczu zmniejszało się o około 80% w ciągu 8 godzin), ani zwiększenia efektów farmakodynamicznych w wyniku wielokrotnego podawania (Hoever i wsp., 2008).

Obiecujące wyniki badań przedklinicznych oraz I i II fazy umożliwiły w 2008 roku rozpoczęcie rozszerzonej próby klinicznej almoreksantu z placebo oraz lekiem referencyjnym – zolpidemem (*REstore physiological Sleep with The Orexin Receptor antagonist Almorexant-1, RESTORA-1*). To wielośrodkowe, podwójnie ślepe, randomizowane badanie przeprowadzono w 91 ośrodkach na całym świecie, w tym również w Polsce. Do badania włączano oso-

by cierpiące na bezsenność pierwotną w wieku 18-64 (709 badanych). W trakcie badania wykonywane były diagnostyczne badania snu, diagnostyczne badania krwi i moczu, badanie EKG, testy oceniające pamięć oraz sprawność psychomotoryczną, skale oceniające jakość snu i samopoczucie, badania snu w trakcie przyjmowania badanego leku (przez 16 dni) oraz po zakończeniu leczenia. Almoreksant podawano w dawkach 100 i 200 mg, natomiast zolpidem w dawce 10 mg. Nie opublikowano jeszcze pełnych wyników badania. Wiemy, że wykazano statystycznie istotną wyższość almoreksantu ($p < 0,001$) w stosunku do placebo, w obiektywnej i subiektywnej poprawie WASO. Lek generalnie był dobrze tolerowany, jednak firmy Actelion i GSK w ramach dodatkowej analizy postanowiły dokładniej ocenić jego profil kliniczny i tolerancji, co okazało się kluczowe dla dalszych decyzji i losów almoreksantu.

W roku 2010 Dorffner i wsp. porównali efektywność snu u osób zdrowych i cierpiących na bezsenność oraz efekty pojedynczego podania placebo lub 200 mg almoreksantu osobom z pierwotną bezsennością. Tym samym po raz kolejny potwierdzono, że almoreksant poprawia inicjację, utrzymanie oraz architekturę snu w tej grupie chorych. Już po podaniu pojedynczej dawki zmienne snu osiągały wartości obserwowane u odpowiednio dobranych pod względem wieku i płci osób zdrowych.

Ponieważ pacjenci z bezsennością, w porównaniu do populacji ogólnej, częściej są obciążeni innymi chorobami, np. depresją, nierzadko stosują kilka leków równocześnie. Wiąże się to z ryzykiem szkodliwych interakcji, zwłaszcza w przypadku dodatkowego używania substancji psychoaktywnych, najczęściej alkoholu etylowego. Almoreksant *in vitro* okazał się inhibitorem izoformy CYP2D6, zaangażowanej w metabolizm wielu leków psychiatrycznych. Cruz i wsp. (2010) dokonali porównania farmakokinetyki, farmakodynamiki i tolerancji pojedynczej dawki 50 mg dezypraminy (modelowego leku przeciwdepresyjnego z grupy TCA) podczas ciągłego zażywania almoreksantu (200 mg/dobę przez 10 dni) z pojedynczą dawką dezypraminy bez almoreksantu u 20 zdrowych ochotników. Obie formy terapii były dobrze tolerowane. Dodanie dezypraminy do ciągłej terapii almoreksantem prawie czterokrotnie zwiększało ekspozycję na dezypraminę ($AUC_{0-\infty}$), ponad dwukrotnie zwiększało czas półtrwania ($t_{1/2}$), prawie dwukrotnie zwiększało jej stężenie maksymalne w osoczu (C_{max}) i opóźniało czas stężenia maksymalnego (t_{max}) o 3,25 h. Almoreksant jest więc umiarkowanym inhibitorem metabolizmu dezypraminy *in vivo*. Pomimo tego koadministracja tych dwóch leków jest bezpieczna.

Oceniono również farmakokinetyczne i farmakodynamiczne interakcje almoreksantu (w dawce 200 mg) i alkoholu (przy stężeniu we krwi 0,6 g/L) u 10 zdrowych mężczyzn i 10 zdrowych kobiet. Badani otrzymywali środki w następujących schematach: A) etanol + almoreksant, B) etanol/placebo + almoreksant, C) etanol + almoreksant/placebo, D) etanol/placebo + almoreksant/placebo. Almoreksant podany z alkoholem prezentował efekty addytywne w stosunku do zdolności adaptacyjnego śledzenia i SPV, obniżał czujność ocenianą za pomocą wizualnej skali analogowej (VAS), ale nie wywoływał dodatkowych efektów: kołysanie ciała, płynne ruchy gałek ocznych i zatrucie alkoholem oceniane za pomocą skali VAS. W nie do końca poznanym mechanizmie działania alkohol powodował wzrost ekspozycji na almoreksant (AUC) o 21%. Jednoczesne podanie almoreksantu i alkoholu było jednak dobrze tolerowane (Hoch i wsp., 2010a).

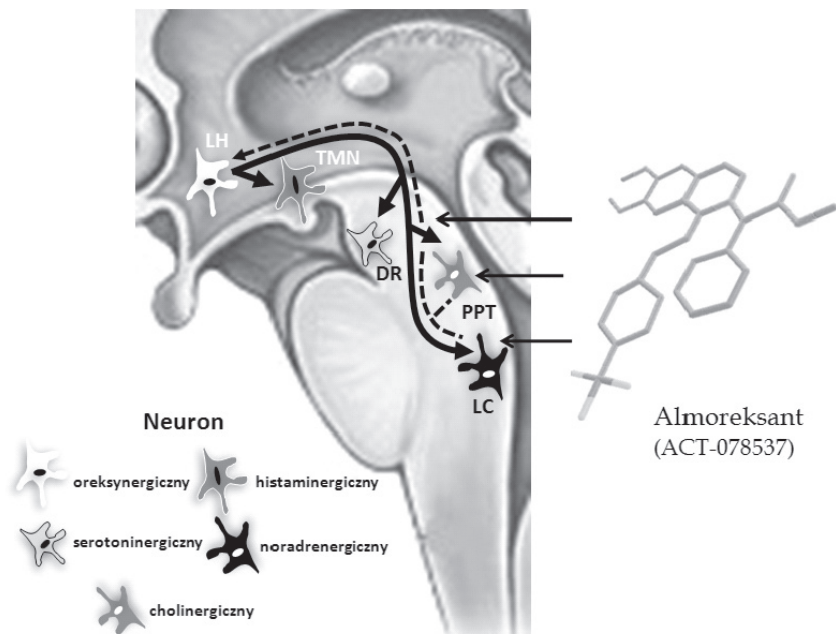
W świetle wyżej zaprezentowanych wyników dotychczasowych badań nad almoreksantem, pewnym zaskoczeniem była decyzja firm Actelion i GSK z dnia 28.01.2011 r. o przerwaniu prac nad tym obiecującym lekiem, prawdopodobnie ze względu na niekorzystny profil bezpieczeństwa i tolerancji (<http://www.actelion.com>). Obie firmy do tej pory nie ujawniły wyników badań, na których oparły swą decyzję, zadeklarowały jednak, że nadal będą prowadziły badania nad klinicznym wykorzystaniem antagonizmu względem receptorów OXR.

PODSUMOWANIE

Odkrycie dualnych antagonistów receptorów oreksynergicznych, do których należy almoreksant stanowi zdecydowany krok naprzód w kierunku optymalnej terapii bezsenności. Leki te mogą być również bardzo efektywne u pracowników zmianowych i ludzi z tzw. zespołem odrzutowca (*jet lag*), których problemy ze snem polegają na tym, że gdy chcą się przespać, ich zegar biologiczny sygnalizuje (m. in. za pomocą oreksyn) stan czuwania. Wyniki badań świadczą o skuteczności DORAs w terapii bezsenności, jednak uzasadniony niepokój budzą informacje o niekorzystnym profilu ich bezpieczeństwa. Co ważne leki te – w przeciwieństwie do benzodiazepin – nie zaburzają architektury snu, tym samym reprezentują nową opcję terapeutyczną dla niemałej grupy osób z zaburzeniami snu.

W miarę postępu badań farmakologicznych i poznawania kolejnych mechanizmów, leżących u podstaw zaburzeń snu i czuwania, w które zaangażowany

Rycina 1. Schemat interakcji neuronów oreksynergicznych podwzgórza z ośrodkami czuwania zlokalizowanymi w pniu mózgu. LH, podwzgórze boczne; TMN, jądro guzowo-suteczkowe; PPT, jądro konarowo-mostowe nakrywki; DR, grzbietowe jądra szwu; LC miejsce sinawe (*locus coeruleus*). Szlaki aktywujące oznaczono strzałką ciągłą, hamujące – przerywaną. Zaprezentowano również strukturę przestrzenną cząsteczki almoreksantu oraz wyróżniono komórki nerwowe stanowiące potencjalny cel działania leku. Szczegóły w tekście artykułu (wzorowane częściowo na Saper i wsp., 2005, całkowicie zmodyfikowane).



jest układ oreksynergiczny mózgu, być może uzasadnienie znajdzie wprowadzenie selektywnych antagonistów receptorów OXR, które dotychczas stosuje się głównie w badaniach podstawowych. Niewykluczone również, że ośrodkową niedoczynnością hipokretynową, odgrywającą istotną rolę w patogenezie narkolepsji z katapleksją, w przyszłości będziemy mogli korygować za pomocą selektywnych agonistów receptorów oreksynergicznych, np. odpowiednio zmodyfikowanych chemicznie analogów oreksyn. Zresztą już teraz wykorzystuje się ten mechanizm w praktyce psychiatrycznej; modafinil – psychostymulant zarejestrowany do leczenia narkolepsji, o nie do końca poznanych miejscach uchwytu – okazał się stymulatorem układu oreksynergicznego mózgu.

Należy pamiętać, że układ oreksynergiczny uczestniczy, nie tylko w regulacji snu i czuwania, ale także w innych procesach fizjologicznych m. in. regulacji homeostazy energetycznej organizmu i poboru pokarmu, regulacji rytmów biologicznych, percepcji bólu, osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (sekrecji CRF i ACTH), układzie nagrody oraz w mechanizmach uczenia się, motywacji i powstawania zależności od substancji psychoaktywnych. Skutkiem ingerencji farmakologicznej w ten niezwykle złożony system mogą być trudne do przewidzenia działania niepożądane. Najważniejsze jednak, że na horyzoncie pojawia się nowa, realna droga w leczeniu zaburzeń

snu i czuwania oraz potencjalna w terapii wielu innych patologii związanych z oreksynami: uzależnień, zaburzeń łaknienia, chorób metabolicznych (np. otyłości) oraz chorób neuropsychiatrycznych.

PIŚMIENNICTWO

1. Bingham MJ, Cai J, Deehan MR. Eating, sleeping and rewarding: orexin receptors and their antagonists. *Curr Opin Drug Discov Devel* 2006; 9: 551-9.
2. Brisbare-Roch C, Clozel M, Jenck F. Effects of repeated oral administration of the orexin receptor antagonist almorexant in male rats and dogs. *Sleep* 2008; 31 (Abstract Suppl): A38.
3. Brisbare-Roch C, Dingemans J, Koberstein R, Hoever P, Aissou H, Flores S et al. Promotion of sleep by targeting the orexin system in rats, dogs and humans. *Nat Med* 2007; 13: 150-5.
4. Brisbare-Roch C, Fischer C, Jenck F. Effect of once-daily almorexant treatment for 6 weeks on the sleep-wake cycle of normal Wistar rats. *European Neuropsychopharmacology* 2010; 20 (Suppl 3): 253-54.
5. Brown RE, Sergeeva OA, Eriksson KS, Haas HL. Convergent excitation of dorsal raphe serotonin neurons by multiple arousal systems (orexin/hypocretin, histamine and noradrenaline). *J Neurosci* 2002; 22: 8850-59.
6. Chen L, McKenna JT, Bolortuya Y, Winston S, Thakkar MM, Basheer et al. Knockdown of orexin type 1 receptor in rat locus coeruleus increases REM sleep during the dark period. *Eur J Neurosci* 2010; 32: 1528-36.
7. Chou TC, Lee CE, Lu J, Elmquist JK, Hara J, Willie JT et al. Orexin (hypocretin) neurons contain dynorphin. *J Neurosci* 2001; 21: RC 168.
8. Cruz H, Hoever P, Hay J, Alessi F, Dingemans J, van Gerven J. Interaction study between almorexant, a dual orexin recep-

- tor antagonist, and desipramine in healthy male subjects. *European Neuropsychopharmacology* 2010; 20 (Suppl 3): 253.
9. Dingemans J, Dorffner G, Goran H, Benes H, Danker-Hopfe H, Polo O et al. Proof-of-concept study in primary insomnia patients with ACT-078573, a dual orexin receptor antagonist. *Sleep and Biological Rhythms* 2007; 5: A190-5.
 10. Diniz Behn CG, Klerman EB, Mochizuki T, Lin SC, Scamelli TE. Abnormal sleep/wake dynamics in orexin knockout mice. *Sleep* 2010; 33: 297-306.
 11. Dorffner G, Anderer P, Saletu B, Saletu-Zyhlarz GM, Danker-Hopfe H, Black J et al. Effect of almorexant treatment on sleep variables in patients with primary insomnia compared with healthy controls. *European Neuropsychopharmacology* 2010; 20 (Suppl 3): 252.
 12. Dugovic C, Shelton J, Aluisio L, Fraser I, Jiang X, Sutton S et al. Blockade of Orexin-1 Receptors Attenuates Orexin-2 Receptor Antagonism-Induced Sleep Promotion in the Rat. *J Pharmacol Exp Ther* 2009a; 330: 142-51.
 13. Dugovic C, Shelton J, Aluisio L, Fraser I, Sutton S, Pascal B et al. Blockade of orexin-1 receptors attenuates orexin-2 receptor antagonism induced sleep promotion in the rat. *Sleep* 2009b; 32 (Abstract Suppl): A1.
 14. Dugovic C, Shelton J, Sutton S, Yun S, Li X, Dvorak C et al. Sleep-inducing effects mediated by selective blockade of orexin OX2 receptors during the light phase in the rat. *Sleep* 2008; 31 (Abstract Suppl): A33.
 15. Fenik VB, Rukhadze I, Kubin L. Orexin 1 and 2 receptor antagonist, almorexant, attenuates activation of hypoglossal (XII) motoneurons elicited by bicuculline from the posterior lateral hypothalamus. *Sleep* 2009; 32 (Abstract Suppl): A18.
 16. Gallopin T, Fort P, Eggermann E, Cauli B, Luppi PH, Rossier J et al. Identification of sleep-promoting neurons in vitro. *Nature* 2000; 404: 992-95.
 17. Gorojankina T, Grébert D, Saless R, Tanfin Z, Caillol M. Study of orexins signal transduction pathways in rat olfactory mucosa and in olfactory sensory neurons-derived cell line Odora : Multiple orexin signaling pathways. *Reg Pep* 2007; 141: 73-85.
 18. Håkanson M, de Lecea L, Sutcliffe JG, Yanagisawa M, Meister B. Leptin receptor and STAT-immunoreactivities in hypocretin/orexin neurons of the lateral hypothalamus. *J Neuroendocrinol* 1999; 11: 653-53.
 19. Hoch M, Hay J, Hoever P, de Kam M, van Gerven J, Dingemans J. Interaction study between almorexant, a dual orexin receptor antagonist, and ethanol in healthy subjects. *European Neuropsychopharmacology* 2010a; 20 (Suppl 3): 258-59.
 20. Hoch M, Hoever P, Haschke M, Krähenbühl S, Dingemans J. Food Effect and Bioequivalence of Two Formulations of the Dual Orexin Receptor Antagonist Almorexant in Healthy Male Subjects. *J Clin Pharmacol* 2010b; doi:10.1177/0091270010377634
 21. Hoever P, de Haas S, Chioffi E, van Gerven J, Dingemans J. Multiple-dose pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety, and tolerability of the orexin receptor antagonist almorexant in healthy subjects. *Sleep* 2008; 31 (Abstract Suppl): A38.
 22. Hoever P, de Haas S, Winkler J, Schoemaker RC, Chioffi E, van Gerven J et al. Orexin receptor antagonism, a new sleep-promoting paradigm: an ascending single-dose study with almorexant. *Clin Pharmacol Ther* 2010; 87: 593-600.
 23. <http://www.actelion.com/en/our-company/news-and-events/index.page?newsId=1483135> (stan na 15.06.11 r.)
 24. Kantor S, Mochizuki T, Janisiewicz AM, Clark E, Nishino S, Scamelli TE. Orexin neurons are necessary for the circadian control of REM sleep. *Sleep* 2009; 32: 1127-34.
 25. Kukkonen JP, Holmqvist T, Ammoun S, Akerman KE. Functions of the orexinergic/hypocretinergic system. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002; 283: C1567-91.
 26. Li A, Nattie E. Antagonism of rat orexin receptors by almorexant attenuates central chemoreception in wakefulness in the active period of the diurnal cycle. *J Physiol* 2010; 588: 2935-944.
 27. Li Y, Gao XB, Sakurai T, van den Pol AN. Hypocretin/orexin excites hypocretin neurons via a local glutamate neuron-A potential mechanism for orchestrating the hypothalamic arousal system. *Neuron* 2000; 36: 1169-81.
 28. Lin L, Faraco J, Li R, Kadotani H, Rogers W, Lin X et al. The sleep disorder canine narcolepsy is caused by a mutation in the hypocretin (orexin) receptor 2 gene. *Cell* 1999; 98: 365-76.
 29. Lu XY, Bagnol D, Burke S, Akil H, Watson SJ. Differential distribution and regulation of OX1 and OX2 orexin/hypocretin receptor messenger RNA in the brain upon fasting. *Horm Behav* 2000; 37: 335-44.
 30. Malherbe P, Borroni E, Gobbi L, Knust H, Nettekoven M, Pinard E et al. Biochemical and behavioural characterization of EMPA, a novel high-affinity, selective antagonist for the OX(2) receptor. *Br J Pharmacol* 2009; 156: 1326-341.
 31. Malherbe P, Borroni E, Pinard E, Wettstein JG, Knoflach F. Biochemical and electrophysiological characterization of almorexant, a dual orexin 1 receptor (OX1)/orexin 2 receptor (OX2) antagonist: comparison with selective OX1 and OX2 antagonists. *Mol Pharmacol* 2009; 76: 618-31.
 32. Malherbe P, Roche O, Marcuz A, Kratzeisen C, Wettstein JG, Bissantz C. Mapping the binding pocket of dual antagonist almorexant to human orexin 1 and orexin 2 receptors: comparison with the selective OX1 antagonist SB-674042 and the selective OX2 antagonist N-ethyl-2-[(6-methoxy-pyridin-3-yl)-(toluene-2-sulfonyl)-amino]-N-pyridin-3-ylmethylacetamide (EMPA). *Mol Pharmacol* 2010; 78: 81-93.
 33. Marcus JN, Aschkenasi CJ, Lee CE, Chemelli RM, Saper CB, Yanagisawa M et al. Differential expression of orexin receptors 1 and 2 in the rat brain. *J Comp Neurol* 2001; 435: 6-25.
 34. Matsuki T, Nomiya M, Takahira H, Hirashima N, Kunita S, Takahashi S et al. Selective loss of GABA(B) receptors in orexin-producing neurons results in disrupted sleep/wakefulness architecture. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 4459-64.
 35. Mignot E, Nishino S. Emerging therapies in narcolepsy-cataplexy. *Sleep* 2005; 28: 754-63.
 36. Muraki Y, Yamanaka A, Tsujino N, Kilduff TS, Goto K, Sakurai T. Serotonergic regulation of the orexin/hypocretin neurons through the 5-HT1A receptor. *J Neurosci* 2004; 24: 7159-7166.
 37. Nishino S. Hypothalamus, hypocretins/orexin and vigilance control. *Handb Clin Neurol* 2011; 99: 765-82.
 38. Nollet M, Gaillard P, Minier F, Tanti A, Belzung C, Leman S. Activation of orexin neurons in dorsomedial/perifornical hypothalamus and antidepressant reversal in a rodent model of depression. *Neuropharmacology* 2011; 61: 336-346.
 39. Ohayon MM. Epidemiology of insomnia: what we know and what we still need to learn. *Sleep Med Rev* 2002; 6(2): 97-111.
 40. Ohno K, Sakurai T. Orexin neuronal circuitry : role in the regulation of sleep and wakefulness. *Front Neuroendocrinol* 2008; 29: 70-87.
 41. Peyron C, Faraco J, Rogers W, Ripley B, Overeem S, Charnay Y et al. A mutation in a case of early onset narcolepsy and a generalized absence of hypocretin peptides in human narcoleptic brains. *Nat Med* 2000; 6: 991-97.
 42. Risold PY, Griffond B, Kilduff TS, Sutcliffe JG, Fellmann D. Preprohypocretin (orexin) and prolactin-like immunoreactivity are coexpressed by neurons of the rat lateral hypothalamic area. *Neurosci Lett* 1999; 259: 153-56.
 43. Rosin DL, Weston MC, Sevigny CP, Stornetta RL, Guyenet PG. Hypothalamic orexin (hypocretin) neurons express vesicular glutamate transporters VGLUT1 or VGLUT2. *J Comp Neurol* 2003; 465: 593-603.
 44. Sakurai T, Mieda M, Tsujino N. The orexin system: roles in sleep/wake regulation. *Ann NY Acad Sci* 2010; 1200: 149-61.

45. Saper CB, Scamell TE, Lu J. Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. *Nature* 2005; 437: 726-31.
46. Sateia MJ, Buysse DJ, eds. *Insomnia: Diagnosis and Treatment*. London: Informa Healthcare; 2010.
47. Sherin JE, Elmquist JK, Torrealba F, Saper CB. Innervation of histaminergic tuberomamillary neurons by GABAergic and galaninergic neurons in the ventrolateral preoptic nucleus of the rat. *J Neurosci* 1998; 18: 4705-21.
48. Steiner MA, Lecourt H, Brisbare-Roch C, Jenck F. Effect of combination of ethanol with the orexin receptor antagonist almorexant or zolpidem on motor performance in rats. *European Neuropsychopharmacology* 2010; 20 (Suppl 3): 264-65.
49. Takahashi K, Koyama Y, Kayama Y, Yamamoto M. Effect of orexin on the laterodorsal tegmental neurons. *Psychiatry Clin Neurosci* 2002; 56: 335-36.
50. Takakusaki K, Takahashi K, Saitoh K, Harada H, Okumura T, Kayama Y et al. Orexinergic projections to the cat midbrain mediate alternation of emotional behavioural states from locomotion to cataplexy. *J Physiol* 2005; 568: 1003-20.
51. Tang J, Chen J, Ramanjaneya M, Punn A, Conner AC, Rande-va HS. The signalling profile of recombinant human orexin-2 receptor. *Cell Signal* 2008; 20: 1651-61.
52. Thannickal TC, Moore RY, Nienhuis R, Ramanathan L, Gulyani S, Aldrich M et al. Reduced number of hypocretin neurons in human narcolepsy. *Neuron* 2000; 27: 469-74.
53. Torrealba F, Yanagisawa M, Saper CB. Colocalization of orexin A and glutamate immunoreactivity in axon terminals in the tuberomamillary nucleus in rats. *Neuroscience* 2003; 119: 1033-44.
54. Trivedi P, Yu H, MacNeil VJ, Van der Ploeg LH, Guan XM. Distribution of orexin receptor mRNA in the rat brain. *FEBS Lett* 1998; 438: 71-75.
55. Tsujino N, Sakurai T. Orexin/Hypocretin : A neuropeptide at the interface of sleep, energy homeostasis and reward system. *Pharmacol Rev* 2009; 61: 162-76.
56. Willie JT, Chemelli RM, Sinton CM, Yanagisawa M. To eat or to sleep ? orexin in the regulation of feeding and wakefulness. *Annu Rev Neurosci* 2001; 24: 429-58.
57. Xie X, Crowder TL, Yamanaka A, Morairty SR, Lewinter RD, Sakurai T et al. GABA(B) receptor-mediated modulation of hypocretin/orexin neurons in mouse hypothalamus. *J Physiol* 2006; 574: 399-414.
58. Yamanaka A, Muraki Y, Ichiki K, Tsujino N, Kilduff TS, Goto K et al. Orexin neurons are directly and indirectly regulated by catecholamines in a complex manner. *J Neurophysiol* 2006; 96: 284-98.
59. Yamanaka A, Muraki Y, Tsujino N, Goto K, Sakurai T. regulation of orexin neurons by the monoaminergic and cholinergic systems. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 303: 120-29.
60. Yamanaka A, Tsujino N, Funahashi H, Honda K, Guan JL, Wang QP et al. Orexins activate histaminergic neurons via the orexin 2 receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 290: 1237-45.
61. Yoshida K, McCormack S, Espana RA, Crocker A, Scamell TE. Afferents to the orexin neurons of the rat brain. *J Comp Neurol* 2006; 494: 845-61.

Adres korespondencyjny:

Artur Pałasz

Zakład Histologii, Katedra Morfologii

Śląski Uniwersytet Medyczny

ul. Medyków 18

40-752 Katowice

e-mail: apalasz@sum.edu.pl
