

Aus dem Fachbereich Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

betreut an der
Dr. Senckenbergischen Anatomie
Institut für Anatomie II
(Experimentelle Neurobiologie)
Direktor: Prof. Dr. Horst-Werner Korf

**Reaktivitätsmuster des Orexin-Systems im Hypothalamus der C57BL- und
der C3H-Maus unter Wach-Bedingung, während des Schlafes und nach
Schlafentzug – Interaktion mit dem Melanin-concentrating hormone (MCH)-
System**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Mehmet Emin Simsek

aus Yüregir (Adana), Türkei

Frankfurt am Main, 2018

1. Zusammenfassung (Abstract)

Das Peptidhormon Orexin (Hypokretin), das insbesondere in Neuronen des lateralen Hypothalamus synthetisiert wird, hat nach neueren Untersuchungen neben dem Einfluss auf das Essverhalten eine entscheidende Funktion im Schlaf-Wach Verhalten. In optogenetischen Untersuchungen, in denen modifizierte Zellen durch Licht aktiviert werden, konnte durch die Hochregulation von Orexin eine deutliche Wachheits- und Aktivitätszunahme der Tiere verzeichnet werden. Bei erhöhter MCH Freisetzung war eine vermehrte Schlafneigung beobachtet worden. Orexin und MCH scheinen demnach gegensinnige Funktionen in der Schlaf-Wach Regulation einzunehmen.

Mit der vorliegenden Arbeit wurden genauere Einblicke in das orexinerge System im Gehirn von zwei unterschiedlichen Mäusestämmen gewonnen. Es ist nach unserem Wissensstand die erste Arbeit, die das Reaktivitätsmuster von Orexin und MCH bei C3H- und C57BL-Mäusen im Hinblick auf Schlaf und Schlafentzug beleuchtet. Der Vergleich zwischen den Mäusestämmen ist im Besonderen interessant, weil die C57BL-Mäuse das pineale Schlafhormon Melatonin nicht bilden.

Beide Mäusestämmen wurden nach Adaptation während drei unterschiedlicher Funktionszustände semiquantitativ immunhistochemisch untersucht: im Schlaf, im aktiven Zustand sowie nach 6-stündigem Schlafentzug. Nach Fixierung der Gehirne wurden die angefertigten Hirnschnitte immunhistochemisch gefärbt und mikroskopiert. Die Semi-Quantifizierung der Immunreaktivität erfolgte durch eine etablierte Bildbearbeitungsmethodik.

Das Verteilungsmuster Orexin- und MCH-ir Neurone ist zwischen den jeweiligen Mäusestämmen gleich und zeigt eine gegenseitige Innervation. Dies spricht für eine geregelte Interaktion beider Botenstoffsysteme.

Weiterhin zeigte sich eine deutliche Schlaf-physiologische Korrelation orexinergere Neurone mit der höchsten Immunreaktivität während der Wachheit. Es konnte jedoch kein Unterschied der Immunreaktivität in Bezug auf Lokalisation und Stadien zwischen C3H- und C57BL-Mäusen nachgewiesen werden, sodass davon auszugehen ist, dass die Melatonindefizienz der C57BL keine bedeutende Rolle in der zirkadianen Regulation von Orexin spielt.

Im Gegensatz zu Orexin konnte kein signifikanter Unterschied in der Immunreaktivität MCH-ir Neurone zu den unterschiedlichen Vigilanzstadien festgestellt werden.

Vermutlich spielt die relative Inaktivität von Orexin in Kombination mit aktiver Sekretion von MCH eine wichtige Rolle in der Induktion und Kontrolle von Schlaf.

Es sind noch viele Fragen offen; insbesondere die Interaktion zwischen Wachheit- und Schlaf-induzierenden Neuronen deren Regulation. Auch der Einfluss vom Nucleus suprachiasmaticus auf Orexinerge/MCHerge Neurone, sowie das Verhältnis von Melatonin zu Orexin und MCH bedarf weiterer Forschungen.

2. Summary (Abstract)

Orexin (Hypokretin) is a peptide hormone, which is particularly synthesized in neurons of the lateral hypothalamus. Beside of the regulation of eating behavior, it has a determining function in the sleep-wake cycle. Recent studies on mammals utilizing optogenetically modified neurons revealed a considerable increase in wakefulness after upregulation of Orexin, whereas an increase of MCH caused drowsiness. Orexin and MCH seem to have opposing functions in the sleep-wake regulation.

To the best of our knowledge, this is the first study investigating in the change of immunohistochemical staining of Orexin and MCH in regard to the sleeping state and sleep-deprivation. We compared the two different mice strains C3H and C57BL, of which the latter one is assumed to be lack of the sleeping hormone Melatonin.

The semiquantitative analysis of the immunoreactivity was made by a well established image analysis program.

There were no differences between the two mice strains with respect to the distribution pattern of Orexin- and MCH-immunoreactive Neurons. The highest immunoreactivity of Orexin was found during the phase of wakefulness and a significant decrease during the sleeping state. No difference could be seen between C3H and C57BL-mice. These findings suggest, that the melatonin deficiency of C57BL does not considerably influence the circadian regulation of Orexin.

Unlike orexin, MCH-immunoreactive Neurons did not show significant changes according to its reactivity during the different states of sleep.

Relative inactivity of Orexin-Neurons und active secretion of MCH speak in favor of a key role in sleep control and sleep induction.

Further research is needed to understand sleep regulation, especially the reciprocal influence of Melatonin, Orexin and MCH.