

HET WONDERMIDDEL OREXINE



TWEE DECENNIA AAN ONDERZOEK

**BACHELORSCRIPTIE
SIEBREN DE VAN DER SCHUEREN
MEI 2020**

HET WONDERMIDDEL OREXINE

Bachelorscriptie
Siebren de van der Schueren
S3492869

Rijksuniversiteit Groningen
Faculty of Science & Engineering
Gedrag & Neurowetenschappen

Neurosciences Research
Scriptiebegeleider: Anton Scheurink
Datum: 17 mei 2020

INHOUDSOPGAVE

INHOUDSOPGAVE	3
HOOFDSTUK 1 – INLEIDING	4
HOOFDSTUK 2 – OREXINE EN ZIJN RECEPTOR	6
HOOFDSTUK 3 – OREXINE EN EETGEDRAG	8
HOOFDSTUK 4 – OREXINE EN ACTIVITEIT	12
HOOFDSTUK 5 – OREXINE EN PIJN	16
HOOFDSTUK 6 – OREXINE EN SLAAP	18
HOOFDSTUK 7 – CONCLUSIE	22
DANKWOORD	23
REFERENTIES	24



In het begin van 1998 werd een stofje ontdekt, genaamd 'orexine' of 'hypocretine'. Je leest het goed: de stof heeft twee namen. Dit komt omdat twee onderzoeksgroepen, de één onder leiding van Luis de Lecea en de ander onder leiding van Takeshi Sakurai, de stof vrijwel tegelijk ontdekten en vlak na elkaar (met een verschil van 45 dagen) hun bevindingen publiceerden. Om verwarring te voorkomen wordt in dit onderzoek gebruik gemaakt van de naam 'orexine', de naam die de groep van Sakurai gekozen heeft.

Bij de ontdekking van orexine kwamen beide onderzoeksgroepen met veel verschillende suggesties voor de rol van orexine in verschillende regulerende mechanismen. Sakurai et al. toonden aan dat orexine eetgedrag bij ratten stimuleerde en wekten de suggestie dat orexine een belangrijke rol speelt in de regulatie daarvan. De Lecea et al. noemden al dat de locatie van orexine cellen in de hypothalamus duidt op veel mogelijke functies. Het stofje klonk veelbelovend, maar veel onduidelijkheid rond de functies moest nog opgehelderd worden in aankomend onderzoek.

In hetzelfde jaar van de ontdekking worden de projecties van orexine neuronen in kaart gebracht. Dit blijken er veel te zijn: orexine neuronen lijken zich uit te strekken naar veel verschillende hersengebieden en de wetenschappers suggereren functies zoals regulatie van eetgedrag, bloeddruk, slaap, neuro-endocrine regulatie of thermoregulatie (Peyron et al., 1998). Orexine kan dus veel functies hebben, waarbij het de vraag is hoe orexine zijn effecten bewerkstelligt en wat er gebeurt er als men iemand orexine toedient.

Inmiddels is er ruim twee decennia aan onderzoek gedaan naar de verschillende functies van orexine en dat roept verschillende vragen op. Kan er al vastgesteld worden wat de belangrijkste functies van het stofje zijn? Kloppen de suggesties die Peyron et al. in 1998 gedaan hebben op basis van al die verschillende neuronale projecties die ze gevonden hebben? Als orexine belangrijke functies heeft, zijn er dan mogelijkheden om ziektes, die samenhangen met de systemen die orexine reguleert, te behandelen door het orexine systeem te beïnvloeden?

In dit onderzoek wordt 20 jaar aan experimenten met orexine op een rij gezet en wordt er gekeken of orexine een wondermiddel met vele functies is, zoals het oogde te zijn bij de ontdekking ervan. Ook wordt gekeken naar de vraag of orexine uitkomsten kan bieden bij ziektebeelden in systemen waar het invloed op heeft.

In dit onderzoek wordt de volgende hypothese gesteld:

“Het orexine systeem heeft veel verschillende functies en sturing van dit systeem of orexine zelf kan gebruikt worden om ziektes tegen te gaan.”

2

OREXINE EN ZIJN RECEPTOR

Inleiding – Het is allereerst belangrijk om een goed beeld te krijgen van de stof orexine, voordat de functies uitgebreid behandeld worden. Voor een goed begrip van de werking van de stof zal daarom in dit hoofdstuk uiteengezet worden wat voor molecuul dit is, hoe deze chemisch werkt in combinatie met zijn receptor, maar ook de locatie waar het geproduceerd wordt en waar in het lichaam het stofje te vinden is.

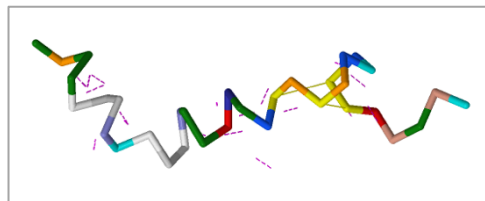
Naam

De naam van orexine, bedacht door Sakurai et al. in 1998, is afgeleid van het Griekse woord 'orexis', wat eetlust betekent. De onderzoeksgroep kwam bij hun ontdekking van de stof met de suggestie dat het een belangrijke rol had in de regulatie van eetgedrag. Zoals al in de inleiding genoemd wordt, wordt de naam 'hypocretine' ook voor de stof gebruikt, maar in dit onderzoek wordt enkel verwezen naar de stof onder de naam 'orexine'.

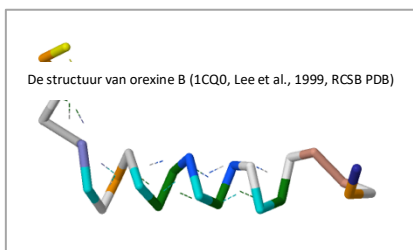
Structuur

Orexine komt voor in twee varianten, namelijk Orexine A en Orexine B. Orexine A en B zijn neuropeptiden, oftewel stoffen opgebouwd uit twee of meer aminozuren, die in het lichaam invloed uitoefenen op hersenactiviteit of het functioneren van de hersenen (Merriam-Webster, "Neuropeptide"). De orexine peptiden worden gemaakt uit de stof prepro-orexine, welke uit 130 aminozuren bestaat, door proteolytische afsplitsing en verschillende post-translationele modificaties (Sakurai et al., 1998). Structureel zijn er een aantal verschillen tussen de orexines. Zo bestaat orexine A uit 33 aminozuren en bevat het twee disulfide bruggen (Söll & Beck-Sickingen, 2000). Orexine B bestaat uit 28 aminozuren en bevat twee alfa-helices (Lee et al., 1999).

De structuur van orexine A (1R02, Kim et al., 2004, RCSB PDB)



De structuur van orexine B (1CQ0, Lee et al., 1999, RCSB PDB)



Orexine receptoren

Door het binden aan een receptor kan orexine effecten bewerkstelligen. Er zijn twee typen receptoren waar orexine aan kan binden, namelijk de orexine 1 receptor en de orexine 2 receptor, welke, door De Lecea et al. in 1998, respectievelijk de hypocretine 1 receptor en de hypocretine 2 receptor genoemd zijn, maar hier zal de naam van orexine receptor aangehouden worden. De orexine receptoren zijn voor 64% homoloog aan elkaar en de receptoren van de rat en mens zijn zeer homoloog aan elkaar (OX1R 94%, OX2R 95%) (Sakurai et al., 1998).

Orexine A heeft vrijwel een gelijke affiniteit voor beide receptoren. Dat houdt in dat deze net zo gemakkelijk bindt aan zowel orexine receptor 1 als receptor 2. Orexine B heeft daarentegen een veel hogere affiniteit voor de orexine 2 receptor en zal zijn effecten dus vooral via deze

receptor bewerkstelligen (Sakurai et al., 1998). Activatie van een van beide receptoren leidt tot activatie van het enzym fosfolipase C (PLC), welke fosfolipiden uit het membraan converteert naar IP3 en DAG. IP3 zorgt voor verhoogde intracellulaire Ca²⁺ concentraties. Over het effect van DAG wordt meer verteld in hoofdstuk 5 over pijn (Silverthorn, 2015, p. 199).

Productie door de hypothalamus

De hypothalamus bevindt zich onder de thalamus en synthetiseert neurohormonen (Silverthorn, 2015, p. 211-215). In het laterale gedeelte van de hypothalamus, oftewel de Laterale Hypothalamus (LH, zie hoofdstuk 3) worden orexine A en orexine B gesynthetiseerd door zo'n 70.000 nucleï (Thannickal et al., 2000).

Neuronale projectie

Orexine neuronen vormen een verbinding tussen de (laterale) hypothalamus en andere hersengebieden. De neuronen projecteren naar allerlei hersengebieden, waaronder de cerebrale cortex, de hersenstam, de thalamus, de stria terminalis, maar ook naar andere delen van de hypothalamus (Elias et al., 1998; Nambu et al., 1999; Peyron et al., 1998).



Inleiding – Eten, eten en nog eens eten. Omdat je voeding nodig hebt om te kunnen overleven, is het lichaam de gehele dag bezig met het sturen van het eetgedrag en heeft het mechanismes om te zorgen dat jij bijvoorbeeld zin hebt in een bepaald soort eten of juist na anderhalf bord pasta geen trek meer hebt omdat het lichaam niet meer voeding nodig heeft en niet zo veel in één keer kan verteren. Eetgedrag bepaalt ons leven, maar ons leven bepaalt ook ons eetgedrag. Iedereen herkent het gevoel dat het lichaam in de regulatie daarvan soms tekortschiet. Soms heb je zin om even flink vet te eten en een kilo zit er zo bij op de weegschaal. De huidige voedingsindustrie speelt op die tekortkoming in en je kan tegenwoordig bijna niet om grote hoeveelheden suiker, vet en zout heen in de simpelste voedingsproducten.

Volgens de World Health Organization (WHO) waren er in 2016 meer dan 650 miljoen volwassenen met obesitas en meer dan 1.9 miljard volwassenen met overgewicht. Cardiovasculaire ziektes, waar mensen met een hoger BMI een grotere kans op hebben, worden als grootste doodsoorzaak genoemd in 2012 (WHO, 2020). Ook noemt de WHO dat in 2014 ongeveer 422 miljoen volwassenen diabetes hadden. De meerderheid van de diabetespatiënten heeft type 2 diabetes, een ziekte die voorkomen kan worden (WHO, 2016). De cijfers liegen er niet om: globaal hebben gigantische hoeveelheden mensen een ziekte, samenhangend met eetgedrag, die te voorkomen is. In dit hoofdstuk wordt gekeken naar de vraag of orexine invloed heeft op de regulatie van eetgedrag en als dit zo is, of sturing van dit systeem een uitkomst kan bieden voor de behandeling van ziektes, zoals obesitas of diabetes.

De laterale hypothalamus

De [Laterale Hypothalamus](#) (LH) speelt een grote rol bij de regulatie van eetgedrag en lichaamsgewicht en stimulatie van de LH heeft een verhoogde voedselinname tot gevolg (Bernardis & Bellinger, 1996). De vondst van orexine neuronen in de LH kan ook duiden op een mogelijke rol van orexine in de regulatie van eetgedrag (Sakurai et al., 1998). Orexine neuronen hebben projecties naar veel hersengebieden en injectie van orexine A in de LH leidt tot activatie van hersengebieden die een belangrijke rol spelen bij de regulatie van eetgedrag en lichaamsgewicht (Mullett et al., 2000).

De **Laterale Hypothalamus** is een gedeelte van het hersengebied met de naam 'hypothalamus'. De hypothalamus heeft een belangrijke rol in de regulatie van de stofwisseling. Zo scheidt de hypothalamus allerlei hormonen uit die als functie hebben om de balans van je lichaam (homeostase) te behouden (EndocrineWeb, 2015).

Injectie van orexine

Sakurai et al. (1998) kwamen met hun ontdekking van orexine A en B met de implicatie dat het centraal toedienen van orexines bij ratten leidt tot meer voedselinname. Meer onderzoek volgt om een beter begrip te krijgen in de gebieden waarop orexine invloed heeft. Zo injecteerden Sweet et al. (1999) orexine A in verschillende hersengebieden en bleek eetgedrag gestimuleerd te worden na injecties in de perifornicale nucleus en de LH. Andere onderzoekers vonden meer eetgedrag na injecties in deze gebieden en daarbij ook in de paraventriculaire nucleus (PVN) en de dorsomediale nucleus. Injecties van orexine in verschillende andere hersengebieden veroorzaakten stimuleerden die gebieden niet. Orexine B bleek ineffectief in de onderzochte gebieden (Dube et al., 1999). Een injectie van Orexine A in de schelp van de nucleus accumbens van ratten zorgt ook voor een verhoging van eetgedrag (Thorpe & Kotz, 2005).

Stimulatie van orexine neuronen

Orexine neuronen bevatten ook andere neurotransmitters die mogelijk een functie hebben in het reguleren van eetgedrag of energie metabolisme. Het stimuleren van orexine neuronen heeft hier invloed op, tonen Inutsuka et al. in 2014 aan. Muizen gaan meer eten, meer water drinken en de zogenaamde Respiratory Exchange Ratio is hoger (RER). Dit laatste houdt in dat de hoeveelheid geproduceerde koolstofdioxide ten opzichte van gebruikte zuurstof groter is geworden, wat wijst op een hoger energieverbruik. De onderzoekers hebben ook gekeken naar het effect van het uitschakelen van neuronen op het eetgedrag van de muizen. Als 70% uitgeschakeld werd, bleek dat nauwelijks zichtbare effecten te hebben op het eetgedrag en pas vanaf 80% uitschakeling werden significante veranderingen in eetgedrag zichtbaar. Het is van belang om ook andere factoren te onderzoeken die bijdragen bij de ontstane effecten.

De orexine receptor antagonist

De mogelijkheid om het orexine systeem te sturen kan kansen bieden voor de behandeling van obesitas. Doordat orexine voedselinname stimuleert, kan het tegenovergestelde effect wellicht bereikt worden door de werkbaarheid van orexine te verminderen. Een [receptor antagonist](#) voor de orexine receptor zou daar een rol in kunnen spelen. Haynes et al. (2000) hebben aangetoond dat eetgedrag als gevolg van orexine A geremd kan worden met de orexine receptor 1 antagonist SB-334867-A. Een experiment volgde waarin muizen met obesitas dezelfde antagonist dagelijks toegediend kregen voor een week en twee keer per dag in de week daarna. Dit had veel effect op de muizen: De voedselinname, de gewichtstoename en de toename in vetmassa nam in die twee weken af. Aan het eind van de testperiode is ook de hoeveelheid bloedglucose tijdens vasten gemeten en deze hoeveelheid bleek ook afgenomen te zijn. De gebruikte antagonist in beide experimenten toont daarnaast eigenschappen die metabolisme stimuleren (Haynes et al., 2002). Een ander onderzoek liet zien dat het toedienen van dezelfde antagonist in de schelp van de nucleus accumbens de voedselinname van ratten ook verlaagt (Thorpe & Kotz, 2005).

Een **receptor antagonist** is een stof die een agonist, een stof die door te binden aan een receptor voor een biologische respons zorgt, tegenwerkt. Doordat een *antagonist* bijvoorbeeld een receptor blokkeert, kan de *agonist* niet meer binden en wordt het effect van de *agonist* verminderd of zelfs gestopt (MSD Veterinary Manual, 2015).

Energie homeostase

Sakurai et al. (1998) gaven bij hun ontdekking van orexine al een voorzet voor onderzoek naar de rol van orexine op de energie homeostase. In hetzelfde jaar van hun ontdekking wordt gedemonstreerd dat orexine A de metabolische snelheid verhoogt en wordt er gesteld dat orexine waarschijnlijk een grotere rol heeft in de energie homeostase dan in de voedselinname. Deze onderzoekers wijzen op een link tussen orexine levels en de voedingstoestand, oftewel in hoeverre je lichaam bepaalde voedingsstoffen nodig heeft, en geven aan dat deze link logischer is dan de link met honger (Lubkin & Stricker-Krongrad, 1998).

Al lang geleden werd aangetoond dat neuronen in de LH geactiveerd worden tijdens een *hypoglycemie* en onderdrukt tijdens *hyperglycemie* (Himmi, Boyer & Orsini, 1988). Na de ontdekking van orexine wijzen twee publicaties op een rol van orexine op de glucose homeostase. Moriguchi et al. (1999) lieten zien dat de activiteit van de LH orexine neuronen onderdrukt werd tijdens een behandeling met insuline en in een hypoglycemische toestand 33% van de neuronen die orexine produceren, actief waren. Een andere studie liet zien dat er meer prepro-orexine mRNA in het LH gebied is na een injectie van insuline in een hypoglycemische toestand (Griffond et al., 1999). Orexine lijkt dus een rol te spelen in de glucose homeostase.

Orexine heeft in ieder geval een belangrijke taak in de glucose homeostase door een connectie te leggen tussen de hypothalamus en het autonome zenuwstelsel. Zo heeft het systeem mogelijk een taak in het verwerken van informatie vanuit de biologische klok naar een effect in de glucosehuishouding. Verstoring van de orexine niveaus heeft een ongebalanceerde glucose homeostase als gevolg (Yi et al., 2009).

Conclusie – Orexine speelt een belangrijke rol bij de regulatie van eetgedrag en beïnvloeding van het orexine systeem kan een uitkomst bieden voor de behandeling van obesitas of diabetes. Een injectie van orexine A in de LH leidt tot de activatie van hersengebieden die geassocieerd worden met de regulatie van eetgedrag. Onderzoek heeft aangetoond dat orexine A in verschillende hersengebieden effect heeft. Centrale orexine A injecties en injecties in de LH, perifornicale nucleus, PVN, de dorsomediale nucleus en de nucleus accumbens, verhoogt de voedselinname in ratten. Stimuleren van orexine neuronen leidt tot meer eetgedrag en een hogere RER bij muizen. Vanaf 80% uitschakeling van de orexine neuronen verandert eetgedrag bij muizen significant.

De orexine receptor 1 antagonist SB-334867-A kan uitkomsten bieden in de behandeling van obesitas, doordat deze veel symptomen van obesitas tegengaat in muizen. Orexine heeft een belangrijke taak in de glucose homeostase. Orexine neuronen zijn actiever tijdens hypoglykemie en orexine lijkt een rol te hebben in het doorgeven van informatie over timing vanuit de biologische klok naar het autonome zenuwstelsel. Met medicatie of andere methoden kunnen de effecten van orexine mogelijk beïnvloed worden en uitkomst bieden voor een behandeling voor diabetes, maar onderzoek is nog nodig om uit te wijzen hoe dit kan werken en in hoeverre dit mogelijk is.

4

OREXINE EN ACTIVITEIT

Inleiding – In de inleiding van het vorige hoofdstuk, over orexine en eetgedrag, worden cijfers van de WHO genoemd die wijzen op een groot aantal patiënten met obesitas. In dat hoofdstuk wordt gekeken naar de relatie van orexine en eetgedrag en daarbij mogelijkheden voor behandeling van obesitas. Eetgedrag is echter niet de enige factor in dit ziektebeeld. Uiteindelijk ontstaat overgewicht als er meer voeding ingenomen wordt dan het lichaam verbruikt. Je hebt uiteraard invloed op hoeveel je beweegt en met voldoende beweging kan je de kans verkleinen dat je overgewicht of obesitas ontwikkelt (National Heart, Lung and Blood Institute). De vraag die hierbij opkomt is: kan medicatie helpen bij het maken van veranderingen in levenswijze met als doel preventie of behandeling van obesitas? In dit hoofdstuk wordt gekeken naar de invloed van orexine op activiteit en de mogelijkheden van het beïnvloeden van dit systeem als behandeling tegen obesitas.

De laterale hypothalamus

Onderzoek in de jaren 70 toonde al aan dat de Laterale Hypothalamus (LH) een belangrijke rol heeft in de regulatie van beweging en activiteit. Schade aan de LH leidt tot slaperigheid, een slechte reactie op stimuli en 'akinesie', waarbij een patiënt niet meer de kracht heeft om vrijwillige bewegingen te maken. Alleen stereotypisch, automatisch gedrag zoals kauwen of likken, blijft over (Levitt & Teitelbaum, 1975). Het feit dat er veel orexine neuronen in de LH te vinden zijn kan duiden op een link tussen orexine en activiteit.

Koppeling eetgedrag en activiteit

In het vorige hoofdstuk wordt beschreven dat bij de ontdekking van orexine geïmpliceerd werd dat orexine een link heeft met eetgedrag (Sakurai et al., 1998). Een logische redenatie op basis van de resultaten kan zijn dat het verhoogde eetgedrag een consequentie is van verhoogde activiteit. Een knaagdier dat actiever is, gaat wellicht ook meer eten. Bij ratten met een orexine injectie in de LH zijn metingen gedaan van de hoeveelheid loopwiel-rotaties en bewegingen in drie dimensies. De resultaten lieten zien dat de ratten zowel in het donker als in het licht actiever waren, maar alleen tijdens een lichtcyclus hadden de ratten een hogere voedselinname. De eerder gemeten verhoogde voedselinname is dus niet direct afhankelijk van een verhoogde activiteit, maar heeft een andere oorzaak (Kotz et al., 2002).

Spontane activiteit

In 1999 bleek dat veel neuronen geactiveerd worden in de Hypothalamische Paraventriculaire Nucleus (PVN) als orexine A intracerebroventriculair (ICV) geïnjecteerd wordt (Edwards et al. 1999). Vijf jaar later stelden onderzoekers dat een injectie van orexine A in de PVN van ratten zou leiden tot een verhoging in spontane activiteit (SPA) en dat het mogelijk een controlerende rol heeft in de [Non-Exercise Activity Thermogenesis](#) (NEAT). In de twee uur na injectie van orexine A in de PVN werden flinke verhogingen gemeten in de hoeveelheid SPA, zonder dat dit afhankelijk was van het moment van de dag. De hoeveelheid SPA correleert met de dosis van

Orexine A en een antagonist (SB-334867, dezelfde die genoemd is in het vorige hoofdstuk) verzwakt het effect van PVN injecties met Orexine A en zorgt voor afnames van SPA (Kiwaki et al., 2004).

Naar het effect van orexine op de nucleus accumbens (NAcc) in de hypothalamus is ook onderzoek gedaan. In de NAcc zijn orexine 2 receptoren gevonden en orexine neuronen projecteren naar dit gebied (Cluderay, Harrison & Hervieu, 2002; Peyron et al., 1998). In een experiment met ratten bleek de hoeveelheid locomotor (ruimtelijke verplaatsing) activiteit verhoogd, na injecties met orexine A in de schelp van de nucleus accumbens (AccSh) (Thorpe & Kotz, 2005).

Non-Exercise Activity Thermogenesis is: “de energie die wordt besteed aan alle dingen die we doen, wat niet slapen, eten of sportief is” en is een term bedacht door James Levine in 2004. Zijn belangrijkste boodschap hield in dat het gezond is om meer energie te besteden aan zaken, zoals staand werken, trampolinespringen of sneeuwschuiven.

Bewijs activiteit verhoogt orexine

Een onderzoek in 2016 laat zien dat er ook andersom een causaal verband is tussen orexine en activiteit. In dit onderzoek werd er in het bloed van mannen ruim, vlak voor en na een fysieke inspanning een monster genomen. Hun resultaten lieten zien dat orexine A significant verhoogd was in het bloedplasma van de mannen na fysieke inspanning (Messina et al., 2016).

Het mechanisme van orexine

Orexine kan het dopaminerge systeem gebruiken om een verhoging in activiteit te veroorzaken. Nakamura et al. (2000) lieten zien dat cellen in de Ventral Tegmental Area (VTA), een gebied met een belangrijke rol in het dopaminerge systeem, innervatie ontvangen van orexine neuronen. Injecties met orexine A veroorzaakten hyperlocomotie, stereotypisch gedrag en zelfverzorging in ratten. Deze effecten werden gedempt door antagonisten van dopamine.

Om deze mechanismen goed te onderzoeken hebben Kotz et al. (2006) een serie experimenten opgezet. In drie hersengebieden van ratten hebben ze orexine A geïnjecteerd, namelijk in de PVN, de rostrale LH en in de substantia nigra, waarop ze de SPA gemeten hebben. Zoals in hoofdstuk 5 ('Orexine en Pijn') te lezen is, heeft orexine invloed op de afgifte van de neurotransmitter GABA. Met deze reden hebben de onderzoekers ook gekeken wat het effect is van het injecteren van een GABA agonist samen met orexine. De substantia nigra bevat veel dopaminerge neuronen en om het effect van dit gebied te meten, hebben de onderzoekers gemeten wat een dopamine receptor antagonist injecteren samen met orexine voor effect heeft.

Allereerst zorgde de injectie van orexine in de PVN ervoor dat de ratten meer gingen exploreren, wat aansluit op eerder in dit hoofdstuk beschreven onderzoek (Kiwaki et al., 2004). Ook een injectie in de rostrale LH zorgde voor een langere ronddwaaltijd. Dit effect werd geremd wanneer er naast orexine ook een GABA agonist geïnjecteerd werd. Orexine heeft een remmend effect op de GABA afgifte, dus het toevoegen van een stof die een vergelijkbare werking als GABA heeft, remt de effecten van orexine. Ten slotte zorgde een injectie van orexine ook in de substantia nigra voor een langere ronddwaaltijd. Als hierbij ook een dopamine 1 receptor antagonist geïnjecteerd werd, waren de effecten van de orexine injectie compleet verdwenen. Orexine heeft dus op verschillende manieren effecten op het dopaminerge systeem.

In de LH zijn naast orexine neuronen, ook glutamic acid decarboxylase 65 (GAD65) neuronen te vinden. Geactiveerde orexine neuronen zorgen voor een sterke activatie van de GAD65 neuronen. Ook stress zorgt voor activatie van orexine neuronen, waarop deze weer GAD65 neuronen activeren. GAD65 neuronen besturen locomotie in muizen en grotere stimulatie van deze neuronen zorgt voor meer locomotie. De activiteit van deze neuronen is vitaal voor normaal locomotief gedrag (Kosse et al., 2017).

Het orexine systeem als medicijn

Uiteindelijk is het de vraag op wat voor manier orexine als medicijn kan dienen, opdat het stimuleert om meer te bewegen. Bunney et al. publiceerden in 2017 een onderzoek waarin zij geprobeerd hebben om orexine neuronen te activeren met Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs (DREADDs). Dit zijn zelfgemaakte receptoren die enkel geactiveerd kunnen worden door een toegediend medicijn, waardoor orexine neuronen heel precies gestimuleerd kunnen worden. In het onderzoek hebben ze experimenten uitgevoerd met muizen met een High Fat Diet (HFD), die door hun dieet minder SPA en NEAT vertoonden dan muizen met een controledieet. Ze stelden dat deze twee waarden minder zouden afnemen in de HFD muizen en zelfs weer zouden toenemen door het stimuleren van de orexine neuronen met hun DREADDs. De SPA en NEAT in muizen met een HFD nam inderdaad weer toe nadat de orexine neuronen geactiveerd waren en bereikte een vergelijkbare hoeveelheid met die van muizen met een controledieet.

Conclusie – Orexine speelt een belangrijke rol bij de regulatie van activiteit en beïnvloeding van het orexine systeem kan mogelijk een rol spelen in de behandeling van obesitas. In ratten is aangetoond dat een ICV injectie van orexine A in de PVN de SPA verhoogt en een injectie van een antagonist (SB-334867) verzwakt dit effect weer. De onderzoekers wekken de suggestie dat orexine NEAT verhoogt. De hoeveelheid locomotor activiteit van ratten verhoogt na een injectie van orexine A in de AccSh. Andersom verhoogt activiteit ook de orexine niveaus in het bloedplasma. Orexine kan activiteit verhogen via het dopaminerg systeem, via bijvoorbeeld de substantia nigra. In de LH werken orexine neuronen samen met GAD65 neuronen om activiteit te beïnvloeden. Orexine neuronen kunnen gestuurd worden met DREADDs om de NEAT te verhogen bij muizen met een HFD. Dit biedt mogelijkheden voor de behandeling van obesitas-patiënten.

5 | OREXINE EN PIJN



Inleiding – Je struikelt ergens overheen en je valt op de grond, je armen vangen je op in een reflex, maar je komt net te hard op je arm terecht. Eerst voel je niks, maar even later gaat je arm opeens enorm pijn doen en elke beweging met je arm voel je, dus dat doe je maar niet. Later blijkt dat je arm gebroken is en dat het verstandig is geweest om je arm niet te bewegen, want dat kan meer schade veroorzaken. In dit geval komt goed naar voren wat voor functie pijn heeft: het waarschuwt je voor mogelijk letsel en door de lokale pijn ga je zorg besteden aan de plaats waar dit vandaan komt, zodat je snel herstelt en letsel niet overbodige proporties aanneemt.

Er kunnen helaas ook zaken fout gaan in dit pijnmechanisme wat tot vervelende klachten kan leiden. Bij chronische pijn kunnen pijnsignalen maanden en soms zelfs jaren aanhouden en dit kan een enorme invloed hebben op de kwaliteit van het leven van een patiënt (National Institute of Neurological Disorders and Stroke, 2019). In dit hoofdstuk wordt gekeken naar de koppeling tussen orexine en pijnprikkels en de mogelijkheid om dit systeem te beïnvloeden in het geval van chronische pijnklachten.

Het effect van cannabis

Mensen die langdurig last hebben van pijn kunnen medische cannabis voorgeschreven krijgen. Cannabis heeft als effect dat het deze pijn verlicht, met daarbij vele andere effecten, zoals een blij of ontspannen gevoel (Drugs.com, "Cannabis: Uses, effects and safety").

Het Periaqueductale Grijs (PAG) is te vinden in de middenhersenen en heeft een belangrijke rol in het reguleren van pijn. Stimulatie van dit gebied kan een rol spelen in de behandeling van chronische pijn (Carrive & Morgan, 2012). Het werkzame bestanddeel van cannabis kan voor deze stimulatie zorgen, doordat het een effect heeft op de cannabinoïde receptor type 1 (CB1). Deze receptor is te vinden op interneuronen in het PAG en na stimulatie remt de receptor de afgifte van glutamaat of GABA, twee neurotransmitters. Het remmen van deze neurotransmitters stopt de remming van bepaalde uitvoerende neuronen in het PAG, wat voor een [nociceptief](#) effect zorgt (Maione et al., 2006).

Nociceptie betekent "de perceptie van een pijnlijke of schadelijke stimulus" en wordt in veel onderzoeken naar pijnprikkels gebruikt (Merriam-Webster, "Nociception").

GPCR's in het Periaqueductale Grijs

De activatie van bepaalde G-proteïne gekoppelde receptoren (GPCR's) kan ook leiden tot de activatie van deze CB1-receptoren. Zo leidt de activatie van een postsynaptische GPCR tot de stimulatie van Fosfolipase-C (PLC), welke weer een positief effect heeft op de omzetting van fosfolipiden in Diacylglycerol (DAG) en IP3. DAG-Lipase (DAGL) deacyleert DAG, wat leidt tot de vorming van 2-AG. Dit eindproduct is een zogenaamde endocannabinoïde en zoals de naam al

doet vermoeden, kan dit stofje de presynaptische CB1-receptor activeren, met de eerder beschreven anti-nociceptieve effecten als gevolg (Kano et al., 2009).

Er is aangetoond dat orexine 1 receptoren in het ventrolaterale PAG deze effecten ook kunnen veroorzaken, na activatie door orexine. Deze receptoren zijn GPCR's en stimuleren ook via PLC de vorming van DAG, wat uiteindelijk omgezet wordt naar 2-AG, wat weer door stimulatie van de presynaptische CB1-receptor een anti-nociceptief effect veroorzaakt (Ho et al., 2011).

Analgesie en stress

Stress, in de vorm van een stressvolle of angstige stimulus, kan in zoogdieren [analgesie](#) veroorzaken. Dit wordt Stress-Induced Analgesia (SIA) genoemd. Studie naar de effecten van deze reactie kan onderzoekers een handvat geven om pijn of stress gerelateerde stoornissen te behandelen (Butler & Finn, 2009).

Een onderzoek in 2016 toonde aan dat laterale hypothalamische orexine neuronen worden geactiveerd door beperkte stress en dat er vervolgens analgesie optrad. Het ligt voor de hand dat het orexine systeem, waarin orexine zorgt voor activatie van CB1-receptoren door 2-AG, hier de sleutelrol in speelt (Lee et al., 2016).

Analgesie is een veelgebruikt begrip in experimenten naar pijnstilling, met als betekenis: "ongevoeligheid voor pijn, zonder verlies van bewustzijn" (Merriam-Webster, "Analgesia").

Acupunctuur als behandeling

De uiteindelijke vraag blijft uiteraard hoe gebruik gemaakt kan worden van dit mechanisme om patiënten te behandelen die last hebben van chronische pijnklachten. Acupunctuur zou een uitkomst kunnen bieden. Er is ontdekt dat het stimuleren van de middenzenuw analgesie kan veroorzaken en dat het orexine mechanisme uit dit hoofdstuk daar een rol in speelt. Deze zenuw loopt door je bovenarm en is door onderzoekers met een lage frequentie gestimuleerd met een naald op punt PC6, dus iets onder de schouderpijpen. Door deze stimulatie worden orexine neuronen in de laterale hypothalamus geactiveerd, waardoor orexine afgegeven wordt in het PAG en wordt het mechanisme ingezet waarbij DAG omgezet wordt in 2-AG en de CB1-receptor geactiveerd wordt. Door deze activatie wordt GABA afgifte geremd en analgesie veroorzaakt (Chen et al., 2018).

Conclusie – Orexine heeft een belangrijke functie in het reguleren van pijn en beïnvloeding van dit systeem kan een uitkomst bieden in de behandeling van patiënten met chronische pijnklachten. Toediening van orexine leidt tot een anti-nociceptief effect doordat stimulatie van orexine 1 receptoren in het ventrolaterale PAG leidt tot de omzetting van DAG in 2-AG, wat via de presynaptische CB-1 receptor zorgt voor remming van GABA afgifte. LH orexine neuronen kunnen geactiveerd worden door stress, wat tot analgesie leidt. Acupunctuur op de middenzenuw activeert orexine neuronen in de LH en kan helpen om via het orexine systeem analgesie te bewerkstelligen.

6

OREXINE EN SLAAP

Inleiding – Eén derde van ons leven slapen we. Iemand van 60 jaar heeft in theorie dus 20 jaar geslapen. Mensen besteden dus enorm veel tijd aan slapen, maar het belang wordt soms nog onderschat. Sommige werkzaamheden moeten nu eenmaal op onregelmatige tijden gebeuren en medewerkers werken in zo'n geval in ploegendiensten of nachtdiensten. Dit heeft een totaal verstoord slaapritme als gevolg, waarbij er op afwisselende momenten van de dag geslapen wordt. Een nachtdienst heeft als gevolg heeft dat je slaapt als het licht is en wakker bent als het donker is. Ons lichaam stelt zich in op een vast moment om te slapen en heeft zijn tijd nodig om zich aan te passen aan veranderingen in bedtijd. Ook zijn wij mensen dag-actieve dieren: ons lichaam wordt actief bij daglicht en wil rusten als het donker is.

Een slaapstoornis die veel voorkomt is insomnia, of slapeloosheid. Patiënten met insomnia krijgen te weinig slaap of slapen niet goed, omdat ze problemen hebben met in slaap vallen en/of in slaap blijven (National Heart, Lung, and Blood Institute, "Insomnia"). Narcolepsie is een neurologische aandoening die het vermogen van het brein om slaap-waak cycli te controleren aantast (National Institute of Neurological Disorders and Stroke, "Narcolepsy Fact Sheet", 2020). In dit hoofdstuk wordt de rol van orexine in de regulatie van slaap uiteengezet en wordt bepaald of het beïnvloeden van dit systeem een functie kan hebben in de behandeling van narcolepsie en insomnia.

Injecties van orexine A en slaapedrag

Peyron et al. brachten in 1998 in kaart naar welke hersengebieden orexine neuronen hun projecties vormden. Dat bleken erg veel verschillende hersengebieden te zijn, waaronder ook verschillende gebieden die betrokken zijn bij het reguleren van slaap. Er is in de jaren veel onderzoek gedaan naar deze projecties en wat de invloed van orexine kan zijn als het gaat om [REM](#) of [NREM](#) slaap.

Al snel na de ontdekking van orexine werd bekend dat een injectie van orexine A centraal in de hersenen leidt tot een verhoging van neuronaal vuren (wat aantoont dat neuronen actief zijn) in de locus coeruleus, wat een hersengebied is met een belangrijke functie in het reguleren van slaap (Hagan et al., 1999). De injectie van orexine A in verschillende hersengebieden heeft invloed op slaapedrag. Zo zorgt een injectie in de Tuberomammillaire Nucleus (TMN) van ratten dat deze vaker wakker zijn en neemt de hoeveelheid REM en NREM slaap af (Huang et al., 2001). Ook is aangetoond dat een injectie met orexine A in de laterodorsale tegmentale nucleus (LDT) in katten zorgt dat deze langere tijden wakker zijn en korter slapen (Xi, Morales & Chase, 2001). Een injectie met dezelfde stof in het basale voorbrein van ratten zorgt ook dat deze langere tijden wakker zijn, een afname in NREM slaap en een dosis-afhankelijke afname in REM slaap (Thakkar et al., 2001).

Slaap is in te delen in twee types: Rapid Eye Movement (**REM**) slaap en Non-Rapid Eye Movement (**NREM**) slaap, welke weer uit verschillende fasen bestaat. In onderzoek wordt vaak gekeken naar verschil in effect van hun experimenten in beide slaaptypes, omdat deze nogal verschillen in neurologische activiteit (National Institute of Neurological Disorders and Stroke, "Brain basics: Understanding sleep", 2019).

Activiteit van orexine neuronen

De bovenstaande resultaten zijn verkregen door orexine toe te dienen, maar het effect van de activiteit van orexine neuronen zelf is ook onderzocht. Het stimuleren van orexine neuronen in slapende ratten, gedurende REM en NREM slaap, vergroot de kans dat deze wakker worden (Adamantidis et al., 2007). De activiteit van orexine neuronen hangt samen met het feit dat een rat wakker is of niet. Estabrooke et al. (2001) lieten zien dat ratten die wakker zijn actievere orexine neuronen hebben, dan wanneer de ratten slapen. De orexine neuronen zijn relatief inactief tijdens de REM en NREM slaap. Ook in specifieke hersengebieden is dit effect te zien. Orexine niveaus in de LH en de mediale thalamus van ratten nemen af tijdens een donkere periode en nemen toe tijdens een lichtperiode (Yoshida et al., 2001).

Een ontregeld orexine systeem leidt tot narcolepsie

Het belang van dit onderzoeksveld ligt vooral naar het leggen van een link met pathologieën die optreden tijdens slaap of afhankelijk zijn van slaap. Twee onderzoeken legden kort na de ontdekking van orexine een belangrijke link tussen het orexine systeem en narcolepsie. Lin liet samen met zijn onderzoeksteam in 1999 zien dat een mutatie in het gen dat codeert voor de orexine 2 receptor kan zorgen dat deze niet goed werkt en narcolepsie als gevolg heeft. Drie weken later volgt een publicatie waarin muizen met een mutatie in het orexine gen, met als gevolg dat deze muizen geen orexine A of B hebben, duidelijke kenmerken van narcolepsie vertoonden (Chemelli et al., 1999).

Onderzoek in mensen

In 2000 volgen er drie onderzoeken naar patiënten met narcolepsie. Nishino et al. (2000) constateerden in 7 van de 9 patiënten met narcolepsie in hun onderzoek zeer lage orexine niveaus. In een ander onderzoek werd bij 6 patiënten met narcolepsie ook een algeheel verlies van orexine aangetoond, maar hun test op ontsteking, wat een mogelijke oorzaak is voor het verlies van orexine, toonde dit niet aan. In hetzelfde onderzoek zijn 74 patiënten met narcolepsie getest en bij een enkele patiënt werd de narcolepsie in verband gebracht met een mutatie in het orexine gen. Het ontstaan van narcolepsie in deze patiënt deed denken aan genetisch opgewekte narcolepsie in dieren (Peyron et al., 2000). In een onderzoek van Thannickal et al. (2000) werden de hersenen van 4 patiënten met narcolepsie vergeleken met de hersenen van 12 mensen met neurologisch normale hersenen en werd gekeken naar de hoeveelheid orexine neuronen. De onderzoekers toonden aan dat de patiënten met narcolepsie 85% tot 95% minder orexine neuronen hadden.

Behandeling narcolepsie

Mieda et al. (2004) hebben een muismodel gemaakt die geen orexine neuronen heeft, waardoor deze dezelfde eigenschappen vertoont als patiënten met narcolepsie, omdat deze vaak ook veel minder orexine neuronen hebben, zoals eerder in dit hoofdstuk uitgelegd. Het centraal toedienen van orexine zorgde dat de ratten langer wakker bleven en zorgde dat de kataplexie, een symptoom van narcolepsie waarbij spieren opeens verslappen, afnam. De symptomen van narcolepsie zijn dus wellicht te behandelen met orexine zelf, omdat het lichaam blijft reageren op de toediening van orexine. Ook is het aangetoond dat de behandeling met orexine A van een narcolepsie model in honden zorgt dat symptomen van narcolepsie afnemen (John, Wu & Siegel, 2000).

Orexine als geneesmiddel

Het gebruik van orexine als geneesmiddel is moeilijk, omdat het medicijn door de bloed-hersenbarrière heen moet. Een oplossing hiervoor is toediening van het medicijn door de neus (intranasaal). In een onderzoek door Dhuria, Hanson & Frey (2009) werd bij ratten intranasale toediening van orexine A vergeleken met een injectie in de bloedbaan (intraveneus). Het intranasale toedienen bleek een stuk beter te werken en wist het brein en het ruggenmerg 5 tot 8 keer beter te bereiken dan de intraveneus methode.

Andere oplossingen

Een oplossing voor problemen rondom het oraal toedienen van orexine, is het ontwikkelen van agonisten. Agonisten met een klein molecuul, die de bloed-hersenbarrière kunnen passeren, kunnen wellicht een uitkomst bieden. Het transplanteren van orexine neuronen zou ook een mogelijkheid kunnen zijn. Arias-Carrión & Murillo-Rodriguez (2014) hebben laten zien dat het transplanteren van deze neuronen naar de LH in ratten slaapgedrag met kenmerken van narcolepsie kan verminderen.

Conclusie – Orexine heeft een belangrijke rol in het reguleren van slaap en beïnvloeden van dit systeem kan een behandeling vormen voor narcolepsie. Een centrale injectie met orexine A leidt tot activatie van de locus coeruleus. Injecties van orexine A in de TMN of het basale voorbrein van ratten zorgt dat deze langere tijden wakker zijn en een afname in REM en NREM slaap. Ook zorgt een injectie met orexine A in de LDT van katten dat deze korter slapen en langer wakker zijn. Het stimuleren van orexine neuronen in slapende ratten vergroot de kans dat deze wakker worden en de neuronen zijn ook actiever als ratten wakker zijn.

Een ontregeld orexine systeem leidt tot narcolepsie. Er is nog veel onderzoek nodig naar de beste manier waarop het orexine systeem gebruikt kan worden om narcolepsie te behandelen. Intranasale toediening van orexine A, agonisten of transplantatie van orexine neuronen, zijn mogelijke behandelingen.

7

CONCLUSIE



Een goed orexine systeem is belangrijk voor een gezond leven en stimulatie van dit systeem kan gebruikt worden om pathologiën tegen te gaan, zoals obesitas, diabetes, chronische pijnklachten en narcolepsie. Het injecteren van orexine A in verschillende hersengebieden en het stimuleren van orexine neuronen leidt tot een hogere voedselinname in ratten. Het toedienen van de orexine receptor 1 antagonist SB-334867-A gaat veel symptomen van obesitas tegen in muizen en kan een uitkomst bieden in de behandeling van obesitas in mensen. Ook speelt orexine een rol in de glucose homeostase. Orexine oefent ook controle uit op SPA en NEAT via het dopaminerg systeem en in de laterale hypothalamus werken orexine en GAD65 neuronen samen aan de regulatie van activiteit. Het sturen van orexine neuronen met DREADDs kan mogelijkheden bieden in de behandeling van obesitas. Toediening van orexine A leidt tot een anti-nociceptief effect en acupunctuur (PC6) kan analgesie veroorzaken via het orexine systeem. Zowel injecties met orexine A, als het stimuleren van orexine neuronen toont aan dat het orexine systeem een belangrijke rol heeft in de regulatie van slaap. Een ontregeld orexine systeem leidt tot narcolepsie en sturing van dit systeem kan uitkomsten bieden in de behandeling van deze slaapziekte.

Orexine heeft dus veel functies en het systeem rondom orexine is complex. Een beter begrip van de rol van deze functies rondom ziektes kan de behandeling en leefbaarheid daarvan verbeteren. Orexine heeft op verschillende gebieden al hoopvolle uitkomsten geboden, wat maakt dat het stofje als een wondermiddel beschouwd mag worden.



Graag wil ik Anton Scheurink bedanken voor het begeleiden van mijn bachelor scriptie. Mooie wandelingen over het zandpad leidden tot mooie ideeën en dat, samen met de onhandige video-gesprekken in deze moeilijke tijd, zal ik niet snel meer vergeten.



REFERENTIES



1CQ0 (Lee, J. H., Bang, E., Chae, K. J., Kim, J. Y., Lee, D. W., & Lee, W. (1999). Solution structure of a new hypothalamic neuropeptide, human hypocretin-2/orexin-B. *European journal of biochemistry*, 266(3), 831-839.), Mol* (D. Sehnal, A.S. Rose, J. Kovca, S.K. Burley, S. Velankar (2018) Mol*: Towards a common library and tools for web molecular graphics MolVA/EuroVis Proceedings. [doi:10.2312/molva.20181103](https://doi.org/10.2312/molva.20181103)), <https://www.rcsb.org/structure/1CQ0>.

1R02 (Kim, H. Y., Hong, E. M., Kim, J. I., & Lee, W. T. (2004). Solution structure of human orexin-A: regulator of appetite and wakefulness. *BMB Reports*, 37(5), 565-573.), Mol* (D. Sehnal, A.S. Rose, J. Kovca, S.K. Burley, S. Velankar (2018) Mol*: Towards a common library and tools for web molecular graphics MolVA/EuroVis Proceedings. [doi:10.2312/molva.20181103](https://doi.org/10.2312/molva.20181103)), <https://www.rcsb.org/structure/1R02>.

Adamantidis, A. R., Zhang, F., Aravanis, A. M., Deisseroth, K., & De Lecea, L. (2007). Neural substrates of awakening probed with optogenetic control of hypocretin neurons. *Nature*, 450(7168), 420-424.

Arias-Carrión, O., & Murillo-Rodríguez, E. (2014). Effects of hypocretin/orexin cell transplantation on narcoleptic-like sleep behavior in rats. *PLoS One*, 9(4).

Bernardis, L. L., & Bellinger, L. L. (1996). The lateral hypothalamic area revisited: ingestive behavior. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 20(2), 189-287.

Bunney, P. E., Zink, A. N., Holm, A. A., Billington, C. J., & Kotz, C. M. (2017). Orexin activation counteracts decreases in nonexercise activity thermogenesis (NEAT) caused by high-fat diet. *Physiology & behavior*, 176, 139-148.

Butler, R. K., & Finn, D. P. (2009). Stress-induced analgesia. *Progress in neurobiology*, 88(3), 184-202.
Cannabis: Uses, effects and safety. (n.d.). Drugs.com. Retrieved May 16, 2020, from <https://www.drugs.com/illicit/cannabis.html>.

Carrive, P., & Morgan, M. M. (2012). Periaqueductal gray. *The human nervous system*, 3, 368-401.

Chemelli, R. M., Willie, J. T., Sinton, C. M., Elmquist, J. K., Scammell, T., Lee, C., ... & Fitch, T. E. (1999). Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation. *Cell*, 98(4), 437-451.

Chen, Y. H., Lee, H. J., Lee, M. T., Wu, Y. T., Lee, Y. H., Hwang, L. L., ... & Chiou, L. C. (2018). Median nerve stimulation induces analgesia via orexin-initiated endocannabinoid disinhibition in the periaqueductal gray. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(45), E10720-E10729.

Cluderay, J. E., Harrison, D. C., & Hervieu, G. J. (2002). Protein distribution of the orexin-2 receptor in the rat central nervous system. *Regulatory peptides*, 104(1-3), 131-144.

Dhuria, S. V., Hanson, L. R., & Frey II, W. H. (2009). Intranasal drug targeting of hypocretin-1 (orexin-A) to the central nervous system. *Journal of pharmaceutical sciences*, 98(7), 2501-2515.

Dube, M. G., Kalra, S. P., & Kalra, P. S. (1999). Food intake elicited by central administration of orexins/hypocretins: identification of hypothalamic sites of action. *Brain research*, 842(2), 473-477.

Edwards, C. M. B., Abusnana, S., Sunter, D., Murphy, K. G., Ghatei, M. A., & Bloom, S. R. (1999). The effect of the orexins on food intake: comparison with neuropeptide Y, melanin-concentrating hormone and galanin. *Journal of Endocrinology*, 160(3), R7.

Elias, C. F., Saper, C. B., Maratos-Flier, E., Tritos, N. A., Lee, C., Kelly, J., ... & Sakurai, T. (1998). Chemically defined projections linking the mediobasal hypothalamus and the lateral hypothalamic area. *Journal of comparative neurology*, 402(4), 442-459.

Estabrooke, I. V., McCarthy, M. T., Ko, E., Chou, T. C., Chemelli, R. M., Yanagisawa, M., ... & Scammell, T. E. (2001). Fos expression in orexin neurons varies with behavioral state. *Journal of Neuroscience*, 21(5), 1656-1662.

- Griffond, B., Risold, P. Y., Jacquemard, C., Colard, C., & Fellmann, D. (1999). Insulin-induced hypoglycemia increases prohypocretin (orexin) mRNA in the rat lateral hypothalamic area. *Neuroscience letters*, 262(2), 77-80.
- Hagan, J. J., Leslie, R. A., Patel, S., Evans, M. L., Wattam, T. A., Holmes, S., ... & Munton, R. P. (1999). Orexin A activates locus coeruleus cell firing and increases arousal in the rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(19), 10911-10916.
- Haynes, A. C., Chapman, H., Taylor, C., Moore, G. B., Cawthorne, M. A., Tadayyon, M., ... & Arch, J. R. (2002). Anorectic, thermogenic and anti-obesity activity of a selective orexin-1 receptor antagonist in ob/ob mice. *Regulatory peptides*, 104(1-3), 153-159.
- Haynes, A. C., Jackson, B., Chapman, H., Tadayyon, M., Johns, A., Porter, R. A., & Arch, J. R. (2000). A selective orexin-1 receptor antagonist reduces food consumption in male and female rats. *Regulatory peptides*, 96(1-2), 45-51.
- Himmi, T., Boyer, A., & Orsini, J. C. (1988). Changes in lateral hypothalamic neuronal activity accompanying hyper- and hypoglycemia. *Physiology & behavior*, 44(3), 347-354.
- Ho, Y. C., Lee, H. J., Tung, L. W., Liao, Y. Y., Fu, S. Y., Teng, S. F., ... & Chiou, L. C. (2011). Activation of orexin 1 receptors in the periaqueductal gray of male rats leads to antinociception via retrograde endocannabinoid (2-arachidonoylglycerol)-induced disinhibition. *Journal of Neuroscience*, 31(41), 14600-14610.
- Huang, Z. L., Qu, W. M., Li, W. D., Mochizuki, T., Eguchi, N., Watanabe, T., ... & Hayaishi, O. (2001). Arousal effect of orexin A depends on activation of the histaminergic system. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(17), 9965-9970.
- Inutsuka, A., Inui, A., Tabuchi, S., Tsunematsu, T., Lazarus, M., & Yamanaka, A. (2014). Concurrent and robust regulation of feeding behaviors and metabolism by orexin neurons. *Neuropharmacology*, 85, 451-460.
- John, J., Wu, M. F., & Siegel, J. M. (2000). Systemic administration of hypocretin-1 reduces cataplexy and normalizes sleep and waking durations in narcoleptic dogs. *Sleep Res Online*, 3(1), 23-28.
- Kano, M., Ohno-Shosaku, T., Hashimoto-dani, Y., Uchigashima, M., & Watanabe, M. (2009). Endocannabinoid-mediated control of synaptic transmission. *Physiological reviews*, 89(1), 309-380.
- Kiwaki, K., Kotz, C. M., Wang, C., Lanningham-Foster, L., & Levine, J. A. (2004). Orexin A (hypocretin 1) injected into hypothalamic paraventricular nucleus and spontaneous physical activity in rats. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 286(4), E551-E559.
- Kosse, C., Schöne, C., Bracey, E., & Burdakov, D. (2017). Orexin-driven GAD65 network of the lateral hypothalamus sets physical activity in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(17), 4525-4530.
- Kotz, C. M., Teske, J. A., Levine, J. A., & Wang, C. (2002). Feeding and activity induced by orexin A in the lateral hypothalamus in rats. *Regulatory peptides*, 104(1-3), 27-32.
- Kotz, C. M., Wang, C., Teske, J. A., Thorpe, A. J., Novak, C. M., Kiwaki, K., & Levine, J. A. (2006). Orexin A mediation of time spent moving in rats: neural mechanisms. *Neuroscience*, 142(1), 29-36.
- Lee, H. J., Chang, L. Y., Ho, Y. C., Teng, S. F., Hwang, L. L., Mackie, K., & Chiou, L. C. (2016). Stress induces analgesia via orexin 1 receptor-initiated endocannabinoid/CB1 signaling in the mouse periaqueductal gray. *Neuropharmacology*, 105, 577-586.
- Lee, J. H., Bang, E., Chae, K. J., Kim, J. Y., Lee, D. W., & Lee, W. (1999). Solution structure of a new hypothalamic neuropeptide, human hypocretin-2/orexin-B. *European journal of biochemistry*, 266(3), 831-839.
- Levine, J. A. (2004). Non-exercise activity thermogenesis (NEAT). *Nutrition reviews*, 62(suppl_2), S82-S97.
- Levitt, D. R., & Teitelbaum, P. (1975). Somnolence, akinesia, and sensory activation of motivated behavior in the lateral hypothalamic syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72(7), 2819-2823.
- Lin, L., Faraco, J., Li, R., Kadotani, H., Rogers, W., Lin, X., ... & Mignot, E. (1999). The sleep disorder canine narcolepsy is caused by a mutation in the hypocretin (orexin) receptor 2 gene. *Cell*, 98(3), 365-376.
- Loeser, J. D., & Treede, R. D. (2008). The Kyoto protocol of IASP basic pain Terminology☆. *Pain*, 137(3), 473-477.

- Lubkin, M., & Stricker-Krongrad, A. (1998). Independent feeding and metabolic actions of orexins in mice. *Biochemical and biophysical research communications*, 253(2), 241-245.
- Maione, S., Bisogno, T., de Novellis, V., Palazzo, E., Cristino, L., Valenti, M., ... & Di Marzo, V. (2006). Elevation of endocannabinoid levels in the ventrolateral periaqueductal grey through inhibition of fatty acid amide hydrolase affects descending nociceptive pathways via both cannabinoid receptor type 1 and transient receptor potential vanilloid type-1 receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 316(3), 969-982.
- Merriam-Webster. (n.d.). Analgesia. In *Merriam-Webster.com dictionary*. Retrieved May 10, 2020, from <https://www.merriam-webster.com/dictionary/analgesia>.
- Merriam-Webster. (n.d.). Neuropeptide. In *Merriam-Webster.com dictionary*. Retrieved May 10, 2020, from <https://www.merriam-webster.com/dictionary/neuropeptide>.
- Merriam-Webster. (n.d.). Nociception. In *Merriam-Webster.com medical dictionary*. Retrieved May 10, 2020, from <https://www.merriam-webster.com/medical/nociception>.
- Messina, G., Di Bernardo, G., Viggiano, A., De Luca, V., Monda, V., Messina, A., ... & Monda, M. (2016). Exercise increases the level of plasma orexin A in humans. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*, 27(6), 611-616.
- Mieda, M., Willie, J. T., Hara, J., Sinton, C. M., Sakurai, T., & Yanagisawa, M. (2004). Orexin peptides prevent cataplexy and improve wakefulness in an orexin neuron-ablated model of narcolepsy in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(13), 4649-4654.
- Moriguchi, T., Sakurai, T., Nambu, T., Yanagisawa, M., & Goto, K. (1999). Neurons containing orexin in the lateral hypothalamic area of the adult rat brain are activated by insulin-induced acute hypoglycemia. *Neuroscience letters*, 264(1-3), 101-104.
- Mullett, M. A., Billington, C. J., Levine, A. S., & Kotz, C. M. (2000). Hypocretin I in the lateral hypothalamus activates key feeding-regulatory brain sites. *Neuroreport*, 11(1), 103-108.
- Nakamura, T., Uramura, K., Nambu, T., Yada, T., Goto, K., Yanagisawa, M., & Sakurai, T. (2000). Orexin-induced hyperlocomotion and stereotypy are mediated by the dopaminergic system. *Brain research*, 873(1), 181-187.
- Nambu, T., Sakurai, T., Mizukami, K., Hosoya, Y., Yanagisawa, M., & Goto, K. (1999). Distribution of orexin neurons in the adult rat brain. *Brain research*, 827(1-2), 243-260.
- National Heart, Lung, and Blood Institute. (n.d.). *Insomnia*. Retrieved May 10, 2020, from <https://www.nhlbi.nih.gov/health-topics/insomnia>.
- National Heart, Lung, and Blood Institute. (n.d.). *Overweight and obesity*. Retrieved May 10, 2020, from <https://www.nhlbi.nih.gov/health-topics/overweight-and-obesity>.
- National Institute of Neurological Disorders and Stroke. (2019, August 13). *Brain basics: Understanding sleep*. Retrieved May 16, 2020, from <https://www.ninds.nih.gov/Disorders/Patient-Caregiver-Education/Understanding-Sleep>.
- National Institute of Neurological Disorders and Stroke. (2019, March 27). *Chronic pain information page*. Retrieved May 10, 2020, from <https://www.ninds.nih.gov/Disorders/All-Disorders/Chronic-Pain-Information-Page>.
- National Institute of Neurological Disorders and Stroke. (2020, March 16). *Narcolepsy fact sheet*. Retrieved May 10, 2020, from <https://www.ninds.nih.gov/Disorders/Patient-Caregiver-Education/Fact-Sheets/Narcolepsy-Fact-Sheet>.
- Nepovimova, E., Janockova, J., Misik, J., Kubik, S., Stuchlik, A., Vales, K., ... & Kobrlova, T. (2019). Orexin supplementation in narcolepsy treatment: a review. *Medicinal research reviews*, 39(3), 961-975.
- Nishino, S., Ripley, B., Overeem, S., Lammers, G. J., & Mignot, E. (2000). Hypocretin (orexin) deficiency in human narcolepsy. *The Lancet*, 355(9197), 39-40.
- Peyron, C., Faraco, J., Rogers, W., Ripley, B., Overeem, S., Charnay, Y., ... & Li, R. (2000). A mutation in a case of early onset narcolepsy and a generalized absence of hypocretin peptides in human narcoleptic brains. *Nature medicine*, 6(9), 991-997.
- 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. *Journal of Neuroscience*, 18(23), 9996-10015.

Reeves, P. T., Roesch, C., & Raghnaill, M. N. (2015, November). *Drug action and pharmacodynamics*. MSD Veterinary Manual. Retrieved May 15, 2020, from <https://www.msdsvetmanual.com/pharmacology/pharmacology-introduction/drug-action-and-pharmacodynamics>.

Sakurai, T., Amemiya, A., Ishii, M., Matsuzaki, I., Chemelli, R. M., Tanaka, H., ... & Arch, J. R. (1998). Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell*, 92(4), 573-585.

Sargis, R. M. (2015, August 4). *An overview of the hypothalamus*. EndocrineWeb. Retrieved May 15, 2020, from <https://www.endocrineweb.com/endocrinology/overview-hypothalamus>.

Silverthorn, D. U. (2015). Communication, integration, and homeostasis. In *Human physiology: An integrated approach* (7th ed., pp. 189-219). Pearson Higher Ed.

Söll, R., & Beck-Sickinger, A. G. (2000). On the synthesis of orexin A: a novel one-step procedure to obtain peptides with two intramolecular disulphide bonds. *Journal of peptide science: an official publication of the European Peptide Society*, 6(8), 387-397.

Sweet, D. C., Levine, A. S., Billington, C. J., & Kotz, C. M. (1999). Feeding response to central orexins. *Brain research*, 821(2), 535-538.

Thakkar, M. M., Ramesh, V., Strecker, R. E., & McCarley, R. W. (2001). Microdialysis perfusion of orexin-A in the basal forebrain increases wakefulness in freely behaving rats. *Archives italiennes de biologie*, 139(3), 313-328.

Thannickal, T. C., Moore, R. Y., Nienhuis, R., Ramanathan, L., Gulyani, S., Aldrich, M., ... & Siegel, J. M. (2000). Reduced number of hypocretin neurons in human narcolepsy. *Neuron*, 27(3), 469-474.

Thorpe, A. J., & Kotz, C. M. (2005). Orexin A in the nucleus accumbens stimulates feeding and locomotor activity. *Brain research*, 1050(1-2), 156-162.

WHO, W. (2016). Global report on diabetes. *World Health Organization*.

World Health Organization. (2020, April 1). *Obesity and overweight*. Retrieved May 10, 2020, from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.

Xi, M. C., Morales, F. R., & Chase, M. H. (2001). Effects on sleep and wakefulness of the injection of hypocretin-1 (orexin-A) into the laterodorsal tegmental nucleus of the cat. *Brain research*, 901(1-2), 259-264.

Yi, C. X., Serlie, M. J., Ackermans, M. T., Foppen, E., Buijs, R. M., Sauerwein, H. P., ... & Kalsbeek, A. (2009). A major role for perifornical orexin neurons in the control of glucose metabolism in rats. *Diabetes*, 58(9), 1998-2005.

Yoshida, Y., Fujiki, N., Nakajima, T., Ripley, B., Matsumura, H., Yoneda, H., ... & Nishino, S. (2001). Fluctuation of extracellular hypocretin-1 (orexin A) levels in the rat in relation to the light-dark cycle and sleep-wake activities. *European Journal of Neuroscience*, 14(7), 1075-1081.

De foto's gebruikt in de vormgeving van dit verslag zijn van de auteursrechtvrije foto-database: <https://unsplash.com/>