

OREXIN 2 RECEPTOR STIMULATION ENHANCES RESILIENCE, WHILE OREXIN 2 INHIBITION PROMOTES SUSCEPTIBILITY, TO SOCIAL STRESS, ANXIETY AND DEPRESSION

A. Rojas Martínez¹, M. Torres Fernández¹

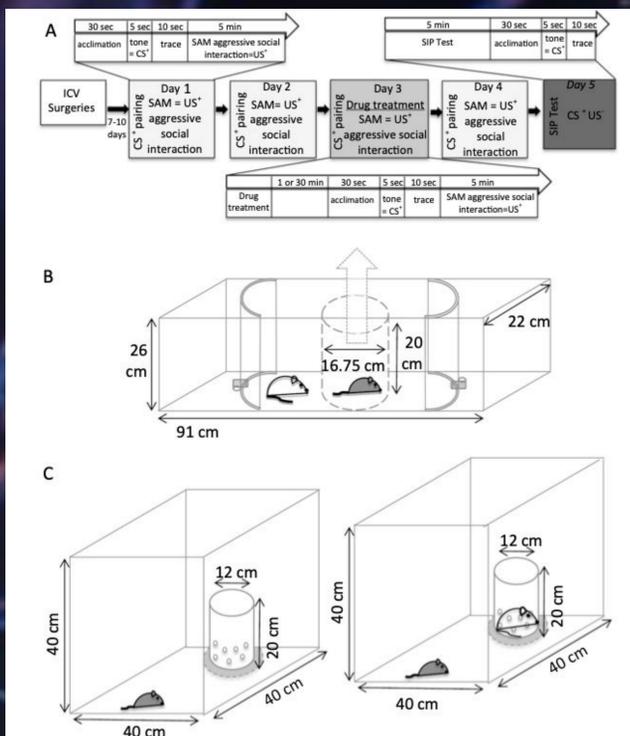
1. Carrera de Biomedicina, Universidad Francisco de Vitoria, Madrid

BACKGROUND

El estrés y la angustia excesiva en humanos puede provocar enfermedades mentales como el PTSD o depresión. Se ha visto que las orexinas/hipocretinas están implicadas en enfermedades causadas por estrés, motivación y afectos extremos. Dicho sistema está formado por dos péptidos OrxA/Hcrt1 y OrxB/Hcrt2. Estos efectos están regulados por los receptores Orx1 y Orx2, ambos tienen la misma afinidad por OrxA y el segundo además por OrxB con la misma afinidad. Orx1 no se une con afinidad a OrxB.

OBJETIVOS

- Testear el método SAM como herramienta de estudio para afinar la complejidad de las relaciones sociales en test de ansiedad y depresión, así como la búsqueda de nuevos modelos animales (ello se debe a la poca exactitud en cuanto a recreación de las situaciones sociales se refiere).
- Estudio de la relación entre la actividad del sistema orexina y situaciones de ansiedad, estrés social o depresión (destinado fundamentalmente al desarrollo de nuevas farmacoterapias, debido a que si bien ya existen terapias destinadas a cubrir estos trastornos, su calidad y satisfacción no son muy elevadas).



METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Sujetos:

- R ratones macho de 6 semanas de unos 25g.
 - R ratones macho de mayor tamaño (CD1) expuestos a comportamientos violentos.
- Se les realizan las cirugías icv correspondientes a cada grupo.

Tests:

SAM (Stress Alternatives Model):

Consta de un open field donde se encuentra el ratón agresor (CD1). El ratón a estudiar está dentro de un cilindro opaco. Presenta a su vez de salidas por las cuales solo podría acceder el ratón estudio por cuestiones de tamaño.

A los ratones se les deja durante 30 segundos dentro del cilindro a modo de aclimatación y posteriormente se les presentan 5 segundos de sonido. Se espera 10 segundos y se levanta el cilindro. Interactúan los dos ratones por 5 min. Los ratones estudio tienen dos opciones: escapar por alguna de las dos rutas ("Escape") o quedarse ("Stay"). Suelen escoger en el segundo día de exposición. Cuando los ratones estudio estaban en peligro se les separaba por el cilindro. Si se escapaban, se les dejaba hasta que terminaban los 5 minutos de test.

SIP (Social Interaction/Preference Test):

Consiste en meter a un ratón durante 2,5 min en una arena con una jarra vacía. Posteriormente se vuelve a realizar el experimento pero con el agresor dentro. Aquellos que estuvieron más tiempo cerca de la jarra con el agresor era "Resilientes" y los que menos, eran "Susceptibles" a estrés social.

HIPÓTESIS:

La modulación de Orx2 puede regular el comportamiento del ratón.

- El reparto icv (cirugía con una aguja intracerebroventricular a modo de implante) de un agonista Orx2 puede desarrollar resiliencia, es decir, un fenotipo "Stay" con menos estrés.
- El reparto icv de un antagonista de Orx2 promueve la respuesta de estrés.

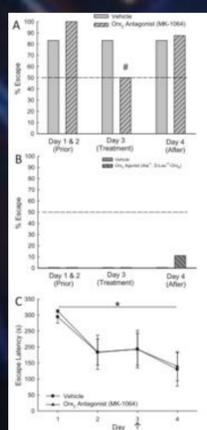
Neuronas GABA (células inhibitorias parcialmente responsables de la ansiolisis) se activarán con Orx2 en ratones Stay.

Grupos:

- N=10: home cage control
- N=20: vehicle control.
- N=17: antagonista de receptor Orx2
- N=9: agonista de receptor Orx2

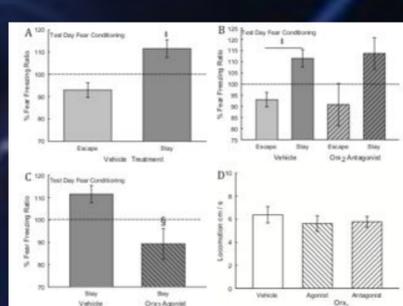
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Figura 2: Escape Behaviour



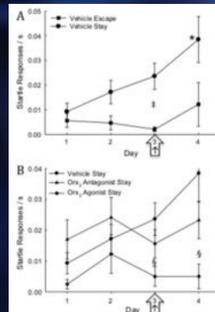
- A) El antagonista Orx2 reduce el fenotipo Escape
B) El agonista de Orx2 aumenta el fenotipo Escape
C) El antagonista Orx2 reduce la latencia a Escapar

Figura 3: Fear conditioning (% freezing)



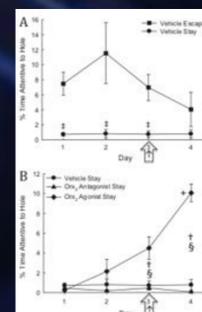
- A) Vehículos. Mayor en fenotipo Stay.
B) Antagonista Orx2. No demasiada variación.
C) Agonista Orx2. Reduce (fenotipo Stay).

Figura 5: Startle responses



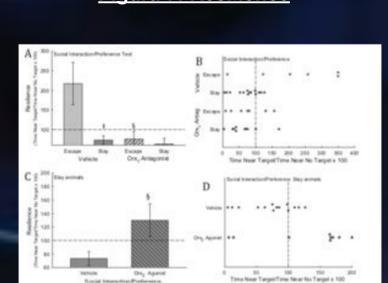
- A) Stay se asustan más tiempo.
B) Stay. Antagonista tras tratamiento se asustan menos tiempo. Agonista se asusta menos tiempo siempre.

Figura 6: Atentiveness



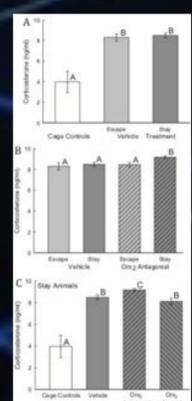
- A) Vehículo. Stay no la presentan. Escape es mayor.
B) Fenotipo Stay. Antagonista Orx2 es igual o menor al vehículo. Agonista Orx2 lo aumenta.

Figura 7: Resilience



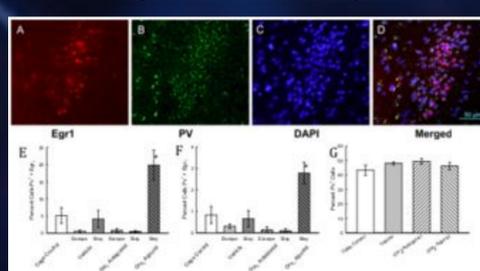
- AB) Vehículo Escape mayor resiliencia. Antagonista Orx2 disminuye resiliencia de Escape.
CD) Agonista Orx2 aumenta resiliencia de Stay.

Figura 8: Corticosterone levels.



- A) Escape y Stay vehículos superan a controles de jaula.
B) Antagonista Orx2. Aumenta un poco el nivel en Stay.
C) Fenotipo Stay. Agonista Orx2 disminuye el nivel en comparación con vehículo. Control jaula sigue siendo mucho menor.

Figura 9: Axiolisis in Stay mice



- Pv= GABA neuron calcium-binding protein Parvalbumin
E) Stay Pv+ y ERG1+. Agonista Orx2 sobreexpresa gen ERG1
F) Stay Pv- y ERG1+. Agonista sobreexpresa gen ERG1, pero menos.
G) Stay Pv+. Agonista y antagonistas expresan ERG1 casi igual.

CONCLUSIONES

- Stay: Escape → 50:50 (fenotipo)
- Orx2 aumenta efecto ansiolítico y antidepressivo
- Agonista de Orx2:
 - Disminuye shock y sorpresa
 - Aumenta atención a vías de escape y resiliencia
 - Recluta a ItC or BLA GABAergic Pv de interneuronas inhibitorias
- Antagonista de Orx2:
 - Revierte el fenotipo Escape
 - Aumenta el nivel de corticoesterona en plasma de ratones Stay
- SAM sirve para evaluar comportamientos sociales de forma rápida
- Tratamientos futuros de enfermedades mentales (originadas por estrés y depresión) con diana en receptores Orx2

Autores: Clarissa D. Staton^{a,b,c}, Jazmine D.W. Yaeger^{a,b,c}, Delan Khalid^{a,d}, Fadi Haroun^{a,e}, Belissa S. Fernandez^a, Jessica S. Fernandez^a, Bali K. Summers^{f,g}, Tangi R. Summers^{a,b,c}, Monica Sathyanesan^b, Samuel S. Newton^b, Cliff H. Summers^{a,b,c,*}

Centros de Trabajo:

- a Department of Biology, University of South Dakota, Vermillion, SD 57069, USA
b Neuroscience Group, Division of Basic Biomedical Sciences, Sanford School of Medicine, University of South Dakota, Vermillion, SD 57069, USA
c Veterans Affairs Research Service, Sioux Falls VA Health Care System, Sioux Falls, SD 57105, USA
d Department of Biology, University of Massachusetts, Boston, 100William T. Morrissey Blvd, Boston, MA 02125, USA
e Department of Biology, University of Utah, 257 South 1400 East, Rm. 201 Salt Lake City, UT 84112-0840, USA
f Vermillion High School, 1001 E Main Street, Vermillion, SD 57069, USA
g Department of Chemistry, Colorado State University, 1301 Center Ave Campus Delivery 1872, Ft. Collins, CO 80523-1872, USA