

Hjernens vaktmestere

– nattlig hjernevask og søvnregulering

Til tross for at vi sover en tredjedel av livet, og søvn har vært et forskningsfelt de siste 100 årene, vet vi forbausende lite om hvorfor vi faktisk sover. Mye tyder jo på at en rekke av kroppens funksjoner er avhengige av søvn, men akkurat hvordan og hvorfor det er slik, er et åpent spørsmål. Vi ved GliaLab på Lettensenteret ved Universitetet i Oslo tror at noe av grunnen til dette kan være at gliacellenes rolle i søvn i liten grad har blitt utforsket, og denne artikkelen vil kort beskrive vår tidligere (under ledelse av professor Erlend Nagelhus) og nåværende forskningsaktivitet på dette feltet.

Astrocyttene, den viktigste gliacellen i hjernebarken, ble lenge tenkt på som et passivt støttevev mellom nervecellene. Imidlertid har det de siste 20–30 årene blitt klart at disse cellene spiller mange viktige roller i hjernen [1]. En av hovedoppgavene for disse cellene er å sørge for at nervecellene har det best mulig, slik at disse kan fungere optimalt. Astrocyttene kontrollerer væsken nervecellene bader i, og sørger for at denne har helt riktig sammensetning av salter og signalstoffer slik som for eksempel kalium og glutamat. Mye tyder også på at astrocyttene kan gripe direkte inn i signaloverføringen mellom nerveceller, og dermed legge til et lag av kompleksitet i hvordan hjernen kan prosessere informasjon [2, 3]. Vi vet også at disse cellene er viktige for reparasjon og vedlikehold, som er funksjoner som kan passe godt med de ideene vi har om hvorfor vi sover og vi finner søvn eller søvnliggende tilstander i alle skapninger vi har undersøkt.

Astrocytter i søvn

Den kjente neuroanatomen Santiago Ramon y Cajal var kanskje den første som tenkte på gliacellenes rolle i søvn da han for 120 år siden foreslo at astrocytter

er involvert i søvnregulering ved å strekke ut utløpere mot synapsene og sette nervesignaler på pause under søvn. Selv om dette forslaget ikke var helt presist, så ser det ut som om han hadde rett i antagelsen om at de spiller viktige roller i søvn. Nå vet vi at astrocyttene sannsynligvis er viktige for flere aspekter ved søvn, som for eksempel søvntrykket – følelsen av søvnighet når man har gått lenge uten søvn [4]. Astrocyttene skiller ut adenosin når man er våken, og dette stoffet bygger seg opp i hjernen i løpet av dagen og hemmer nerveceller som er ansvarlige for våkenhet, og aktiverer nerveceller som induserer søvn. I søvn renses adenosin gradvis ut av ekstracellulærommet og syklusen begynner på nytt. Interessant nok så antar man at effekten av kaffe på våkenhet kan gå via denne mekanismen: Koffein har en lignende struktur som adenosin og blokkerer det søvninduserende adenosinet og gjør deg mer våken [5]. Andre studier har vist at astrocyttene spiller en viktig rolle for døgnrytmen [6], samt at de påvirker lavfrekvent elektrofysiologisk aktivitet på EEG som man finner i dyp søvn [7, 8]. Videre er det også vist at astrocyttene er viktige for å fjerne avfallsstoffer fra hjernevevet i søvn ved at de påvirker flyt av ekstracellulærvæske i hjernen [9, 10].

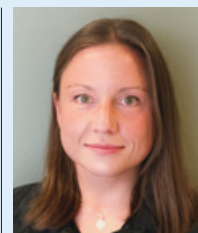


Foto: Privat

Laura Bojarskaite

Ph.d. fra Institutt for medisinske basalfag, Universitetet i Oslo

Nevrologisk avdeling, Oslo Universitetssykehus

Mastergrad i Farmasøytisk vitenskap

Postdoktor ved Universitetet i Oslo

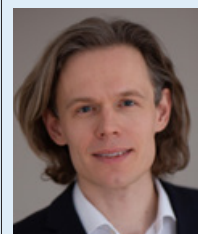


Foto: Privat

Rune Enger

Ph.d og cand.med

Førsteamanuensis ved GliaLab og Lettensenteret, Institutt for medisinske basalfag, Universitetet i Oslo

Nattlig hjernevask

I 2012 oppdaget professor Erlend Nagelhus ved Universitetet i Oslo, i samarbeid med professor Maiken Nedergaard ved University of Rochester i USA at astrocyttene påvirker flyt av ekstracellulær væske i hjernen, og spiller en viktig rolle for utrensning av avfallsstoffer, væske og metabolitter fra hjernevevet [9]. De viste at cerebrospinalvæsken kunne trenge inn i hjernen fra subarachnoidalrommet langs blodårene i det såkalte perivaskulære rommet, og at denne væskeflyten deretter vasket ut avfallsstoffer slik som beta-amyloid, et viktig slaggstoff som akkumulerer i Alzheimer's sykdom, fra selve hjernevevet. På grunn av dette tenkte man seg at defekter eller varianter i dette sirkulasjonssystemet kunne påvirke risiko for å utvikle nevrodegenerative tilstander i løpet av et langt liv. Videre fant man at væskeflyten ble påvirket av gliacellene, ved at mus som mangler vannkanaler – aquaporin-4 – i astrocytter hadde en mye mindre effektiv perivaskulær væskestrøm og mindre effektiv fjerning av avfallsstoffer. Aquaporin-4 er meget kraftig anrikt i de såkalte astrocyttendeføttene som omkranser alle blodårene i hjernen og man tenkte seg at disse astrocyttendeføttene

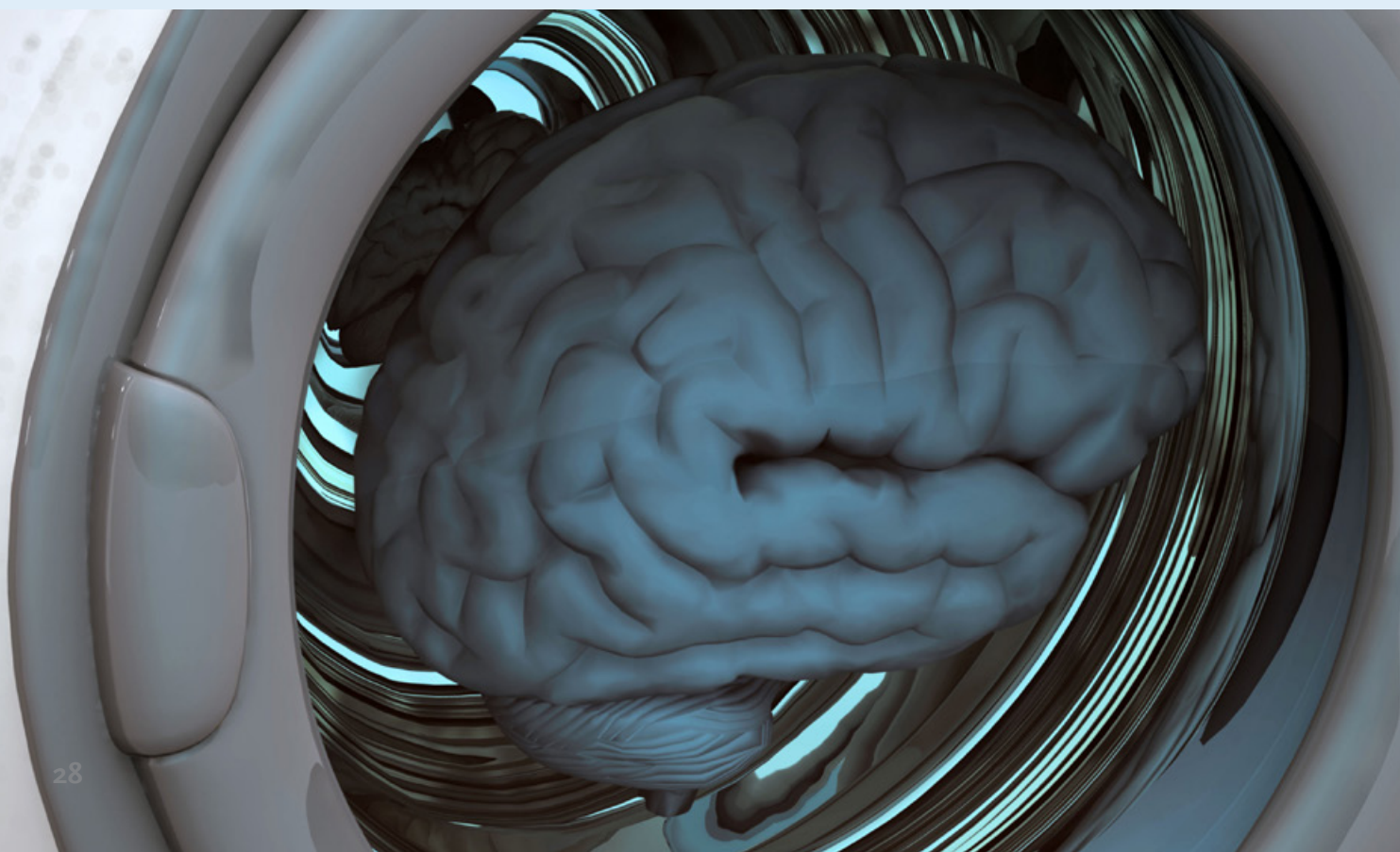
spiller en viktig rolle for å regulere denne 'hjernevaskprosessen'. I og med at dette systemet på mange måter var analogt med lymfesystemet i resten av kroppen, all den tid det fjerner overskuddsvæske og avfallsstoffer fra vevet, ble systemet døpt 'det glymfatiske system' (glia + lymfatisk). Året etter publiserte forskningsgruppen til Maiken Nedergaard en oppsiktsvekkende artikkel i Science som demonstrerte at det glymfatiske system nærmest utelukkende var aktivt under søvn [10]. Denne oppdagelsen skapte mye oppmerksomhet, da den trakk linjer mellom basale fysiologiske mekanismer, søvn og søvnkvalitet og mulig risiko for utvikling av demens. Funnet ble kåret til en av topp 10 vitenskapelige gjennombrudd i Science det året, og ble presentert i media som en av de grunnleggende årsakene til at vi må sove [11, 12].

Siden disse to gjennombruddene har en rekke artikler blitt publisert som har foreslått en rekke tilstander hvor denne væskestrømmen er viktig [13, 14], samt i noen grad har kastet lys over hvilke mekanismer som er i spill [14–19]. Per nå antar man at det er blodårepulsasjoner som er den primære driveren for væskeflyten i det glymfatiske system [19], og at

den økte effektiviteten av dette systemet i søvn skyldes at ekstracellulærvolumet i selve hjernevevet øker med så mye som 60 % i søvn (fra 13–15 % til 22–24 %) [10]. Til tross for en rekke artikler som støtter deler av den opprinnelige hypotesen, eller viser roller for det glymfatiske system i en rekke hjerneprosesser, er detaljene og implikasjonene av det glymfatiske system fremdeles kontroversielt. Spesielt kontroversielt er hvorvidt det foregår en væskestrøm gjennom selve hjernevevet (bulk-flow), slik som opprinnelig postulert, eller hvorvidt partikler utelukkende beveger seg i hjernevevet ved diffusjon [18, 20]. Den mekanistiske forståelsen av drivkreftene til det glymfatiske systemet og hvordan dette systemet kraftig forbedres under søvn er bare rudimentært utforsket. Til tross for at astrocyttene med sine aquaporiner ser ut til å spille en sentral rolle for denne hjernevasken, fantes det for eksempel inntil i fjor ikke en eneste artikkel som beskrev astrocyttaktivitet i naturlig søvn.

Astrocyttene sover ikke

I 2020 publiserte vi en studie som for første gang beskrev aktiviteten til astrocyttene under naturlig søvn hos mus [21]. Nerveceller kommuniserer med





Økt
mengde
søvnspindler kan
potensielt være
involvert i tilstander
som lærevansker
og psykiatrisk
sykdom.

aksjonspotensialer og utslipp av kjemiske signalstoffer, som lett lar seg måle ved hjelp av elektrofysiologiske metoder. Astrocyttene derimot, er ikke elektrisk eksitabile, og de kommuniserer på et helt annet vis, nemlig med intracellulære kalsiumsignaler. Det er først de siste 5 årene det har vært mulig å studere disse kalsiumsignalene i uanesthetiserte forsøksdyr ved hjelp av avansert lasermikroskopi, såkalt tofotonmikroskopi. I artikkelen til Bojarskaite og medarbeidere fra 2020 målte vi disse kalsiumsignalene i de forskjellige søvnstadiene i hjernen til naturlig sovende mus. Vi fant redusert astrocyttaktivitet under søvn sammenlignet med når musene var våkne. Imidlertid var det fortsatt gjenværende aktivitet under søvn som varierte i de forskjellige søvnstadiene (hos mus deles søvn inn i NREM og REM søvn, samt en overgangsfase, såkalt 'intermediate state' (IS) søvn). Interessant nok fant vi en økning i astrocyttkalsiumaktivitet før overgangen fra søvn til våkenhet (definert ved hjelp av EEG og EMG) når musene våknet fra dyp søvn (NREM og IS-søvn). Dette var et bemerkelsesverdig funn fordi det viser at astrocytter kan være involvert i å regulere søvn-våkenhet og oppvåkingsprosessen. Derfor tok vi i bruk en type genmodifisert

mus som mangler en av de viktigste kildene til Ca^{2+} økning intracellulært (de mangler IP₃-reseptor 2), for å kartlegge hvilke effekter astrocyttkalsiumsignallingen har på søvn. Disse musene hadde forstyrret dyp søvn (NREM og IS-søvn), ved at de hadde hyppigere korte oppvåkninger, skiftet oftere mellom forskjellige søvnfaser, og at de ikke hadde like dyp søvn (mindre lavfrekvent aktivitet på EEG) som normale mus. Dette kan tyde på at astrocyttkalsiumsignaler er viktige for å opprettholde NREM-søvn, og god søvnkvalitet. Interessant nok fant vi også en økning i såkalte søvnspindler hos disse musene. Økt mengde søvnspindler kan potensielt være involvert i tilstander som lærevansker og psykiatrisk sykdom [22–24], selv om mengden søvnspindler også korrelerer med intelligens [25]. Denne første studien av astrocyttenes natteliv skapte mye oppmerksomhet både i forskningsfeltet og i mediene, og relevansen av emnet har ettertrykkelig blitt understreket av i alt 6 påfølgende studier fra andre laboratorier om astrocyttkalsiumsignalling i søvn det siste året [26–31]. Disse andre studiene bekreftet en viktig rolle for kalsiumsignaler

i astrocytter i dyp søvn, og at astrocytter representerer en viktig brikke å få på plass for å forstå basal søvnfysiologi.

Pågående forskningsprosjekter

Vi i GliaLab jobber videre med disse problemstillingene. Vi forsøker for eksempel å forstå hvordan de forskjellige søvnfasene bidrar til det glymfatiske system, og hvilke mekanismer som påvirker væskeflyt i de periovaskulære rommene under søvn. Per nå antar man at det glymfatiske system primært er aktivt i dyp søvn, men rollen til REM-søvn er heller ikke veldig grundig undersøkt. Imidlertid er det beskrevet en karakteristisk utvidelse av blodårer i hjernen i REM-søvn, som man kan tenke seg kan påvirke perivaskulær væskeflyt [32]. Videre vet man i liten grad hva det er som muliggjør at væske mer effektivt kan komme seg fra det perivaskulære rommet inn i selve hjernevevet i søvn enn i våkenhet. Det er nærliggende å tenke at astrocyttendeføttene, som danner en nær kontinuerlig hylse rundt blodårene kan spille en rolle i denne reguleringen. Vi undersøker nå blant annet om kalsiumsignalingen i astrocyttendeføttene kan være

viktig for denne reguleringen og hvilken rolle aquaporin-4 spiller.

Andre pågående søvnrelaterte studier i GliaLab forsøker å kartlegge hvorvidt astrocyttkalsiumsignaler i søvn kan påvirke hukommelsesfunksjonen. I tillegg til at vi vet at økning og reduksjon i søvnspindler kan være forbundet med både sykdomstilstander og intelligens, vet vi

også at de sannsynligvis representerer tidspunkt hvor minnespor kan forsterkes og flyttes fra midlertidig lager i hippocampus til langtidslagring i hjernebarken [33]. I vår studie fant vi som sagt en økt mengde søvnspindler hos mus med redusert astrocyttkalsiumsignalling. Dette kan tyde på at disse astrocyttene spiller en rolle i å tillate eller undertrykke søvnspindler. Andre studier fra andre

laboratorier har også vist at hukommelsesfunksjonen kan forbedres ved å øke mengden astrocyttkalsiumsignaler i hippocampus [32]. Vi ønsker nå å videre undersøke hvilke konsekvenser disse endringene i astrocyttkalsiumsignalling kan ha for minnefunksjonen ved å mikroskopere både hippocampus og hjernebarken i sovende mus under minnekonsolidering.

REFERANSER

1. Verkhratsky, Alexei, Maiken Nedergaard, and Leif Hertz. «Why are astrocytes important?» *Neurochemical research* 40.2 (2015): 389-401.
2. Savtchouk I, Volterra A (2018) Gliotransmission: Beyond black-and-white. *Journal of Neuroscience* 38(1):14-25.
3. Fiacco TA, McCarthy KD (2018) Multiple lines of evidence indicate that gliotransmission does not occur under physiological conditions. *Journal of Neuroscience* 38(1):3-13.
4. Halassa, Michael M., Cedrick Florian, Tommaso Fellin, James R. Munoz, So-Young Lee, Ted Abel, Philip G. Haydon, and Marcos G. Frank. 2009. "Astrocytic Modulation of Sleep Homeostasis and Cognitive Consequences of Sleep Loss." *Neuron* 61 (2): 213-19.
5. Clark I, Landolt HP. (2017) Coffee, caffeine, and sleep: A systematic review of epidemiological studies and randomized controlled trials. *Sleep Medicine Reviews*. 31:70-78.
6. Brancaccio M et al. (2019) Cell-autonomous clock of astrocytes drives circadian behavior in mammals. *Science* 363(6423):187-192.
7. Fellin T et al. (2009) Endogenous nonneuronal modulators of synaptic transmission control cortical slow oscillations in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106(35):15037-15042.
8. Poskanzer KE, Yuste R (2016) Astrocytes regulate cortical state switching in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113(19):E2675-84.
9. Iliff JJ et al. (2012) A Paravascular Pathway Facilitates CSF Flow Through the Brain Parenchyma and the Clearance of Interstitial Solutes, Including Amyloid Beta. *Science Translational Medicine* 4(147):147ra111-147ra111.
10. Xie L et al. (2013) Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. *Science* 342(6156):373-377.
11. <https://www.bbc.com/news/health-24567412>.
12. <https://www.science.org/content/article/sciences-top-10-breakthroughs-2013-rev2>
13. Nedergaard M, Goldman SA (2020) Glymphatic failure as a final common pathway to dementia. *Science*. 2;370(6512):50-56.
14. Rasmussen MK, Mestre H, Nedergaard M. (2018) The glymphatic pathway in neurological disorders. *Lancet Neurology*. 17(11):1016-1024.
15. Holter KE et al. (2017) Interstitial solute transport in 3D reconstructed neuropil occurs by diffusion rather than bulk flow. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114(37):9894-9899.
16. Vinje V et al. (2019) Respiratory influence on cerebrospinal fluid flow – a computational study based on long-term intracranial pressure measurements. *Scientific Reports* 9(1):1-13.
17. Hablitz LM et al. (2019) Increased glymphatic influx is correlated with high EEG delta power and low heart rate in mice under anesthesia. *Science Advances* 5(2):1-8.
18. Hladky SB, Barrand MA (2018) Elimination of substances from the brain parenchyma: Efflux via perivascular pathways and via the blood-brain barrier. *Fluids and Barriers of the CNS* 15(1):1-73.
19. Iliff JJ et al. (2013) Cerebral arterial pulsation drives paravascular CSF-Interstitial fluid exchange in the murine brain. *Journal of Neuroscience* 33(46):18190-18199.
20. Smith AJ, Yao X, Dix JA, Jin BJ, Verkman AS (2017) Test of the 'glymphatic' hypothesis demonstrates diffusive and aquaporin-4-independent solute transport in rodent brain parenchyma. *eLife* 6:1-16.
21. Bojarskaite, L & Bjørnstad DM et al. (2020) Astrocytic Ca2+ signaling is reduced during sleep and is involved in the regulation of slow wave sleep. *Nature Communications* 11, 3240.
22. Fogel, SM, Smith, CT & Beninger, RJ (2010) Too much of a good thing? Elevated baseline sleep spindles predict poor avoidance performance in rats. *Brain Research* 1319, 112-117.
23. Shibagaki, M, Kiyono, S & Watanabe, K (1980) Sommeil nocturne chez des enfants très retardés: patterns EEG anormaux des cycles de sommeil. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 49, 337-344.
24. Gibbs, EL & Gibbs, FA (1962) Extreme spindles: correlation of electroencephalographic sleep pattern with mental retardation. *Science* 138, 1106-1107.
25. Manoach, DS & Stickgold, R (2019) Abnormal sleep spindles, memory consolidation, and schizophrenia. *Annual Review of Clinical Psychology* 15, 451-479.
26. Ingiosi AM et al. (2020) A Role for Astroglial Calcium in Mammalian Sleep and Sleep Regulation. *Current Biology* 30(22):4373-4383. e7.
27. Blum, ID et al. Astroglial Calcium Signaling Encodes Sleep Need in Drosophila. *Curr. Biol.* 31, 150-162.e7 (2021).
28. Vaidyanathan, TV et al. (2021) Cortical astrocytes independently regulate sleep depth and duration via separate GPCR pathways. *eLife* 10:e63329.
29. Kjaerby, C. et al. (2020) Dynamic fluctuations of the locus coeruleus-norepinephrine system underlie sleep state transitions. *bioRxiv* doi:10.1101/2020.09.01.274977
30. Tsunematsu et al. (2021) Region-Specific and State-Dependent Astrocyte Ca2+ Dynamics during the Sleep-Wake Cycle in Mice. *The Journal of Neuroscience* 41(25) 5440-5452
31. Kim et al. (2020) Astrocytes in the Ventrolateral Preoptic Area Promote Sleep. *The Journal of Neuroscience* 40(47) 8994-9011.
32. Bergel A, Deffieux T, Demené C, Tanter M, Cohen I (2018) Local hippocampal fast gamma rhythms precede brainwide hyperemic patterns during spontaneous rodent REM sleep. *Nature Communications* 9:5364.
33. Fernandez LMJ, Lüthi A (2020) Sleep Spindles: Mechanisms and Functions. *Physiological Reviews* 100(2):805-868.
34. Adamsky A et al. (2018) Astrocytic Activation Generates De Novo Neuronal Potentiation and Memory Enhancement. *Cell* 174(1):59-71.e14.