

# ZEGARY GLEJOWE – ROLA KOMÓREK GLEJOWYCH W PLASTYCZNOŚCI OKOŁODOBOWEJ

## GLIAL CLOCKS – THE ROLE OF GLIAL CELLS IN THE CIRCADIAN PLASTICITY

Katarzyna ZYCHAL, Jolanta GÓRSKA-ANDRZEJAK

Zakład Biologii i Obrazowania Komórki,  
Instytut Zoologii, Uniwersytet Jagielloński

*Streszczenie:* Plastyczność okołodobowa (ang. *circadian plasticity*) układu nerwowego to szczególny rodzaj plastyczności, której istotę stanowią rytmiczne (o okresie rytmu około 24 godziny) zmiany morfologii i fizjologii struktur nerwowych. Są one generowane przez tzw. zegary okołodobowe. Najnowsze badania wykazały, że oprócz neuronów, także niektóre typy komórek glejowych mogą pełnić rolę zegarów. Dysponując endogennym mechanizmem zegarowym wytwarzającym dobowe oscylacje, komórki te wykazują w ciągu doby rytmiczne zmiany morfologii i ekspresji określonych genów. Mogą wpływać na działanie zegarów neuronalnych oraz rytmikę behawioralną organizmu. W przedstawionej pracy dokonano przeglądu najnowszych badań nad rolą komórek glejowych w generowaniu oraz regulacji okołodobowej rytmiki struktur nerwowych.

*Słowa kluczowe:* komórki glejowe, plastyczność, zegar biologiczny, rytmy okołodobowe

*Summary:* Circadian plasticity of the nervous system represents the particular type of neuronal plasticity that manifests itself in rhythmic (with a period of approximately 24 hours) changes of morphology and physiology of the nervous structure. It is generated by so called circadian clocks. Recent reports show that not only neurons but also certain types of glial cells can function as the clocks. Being equipped in the endogenous pacemaker mechanism, they reveal rhythmic changes of morphology and gene expression. What is more, they influence the functioning of neuronal clocks and the behavioral rhythmicity of the organism. This paper summarizes the recent studies on the role of glia in generating and regulating the circadian rhythmicity of the nervous tissue.

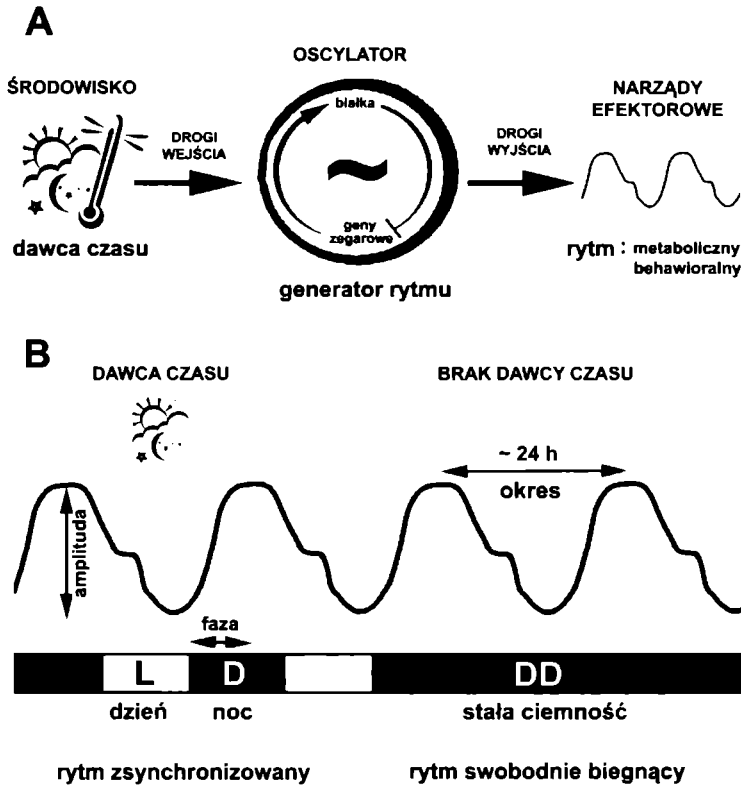
*Key words:* glial cells, plasticity, biological clock, circadian rhythms

## WSTĘP

Komórki glejowe stanowią ponad połowę objętości ludzkiego mózgu [9]. Mimo tego, ich rola w funkcjonowaniu układu nerwowego była niedoceniana przez bardzo długi czas. Nazwa glej, pochodząca od greckiego słowa *gloiós – klej, odnosi się jedynie do jego funkcji strukturalnej i podporowej*, i niewątpliwie tylko z tej perspektywy glej, jako tkanka, był przez długi czas postrzegany. Najnowsze badania pokazały jednak, że komórki te regulują różne procesy nerwowe, w tym także najważniejszy z nich, czyli neurotransmisję [22, 35, 44]. Pierwsze prace, w których wykazano, że posiadają one znacznie większe „kompetencje” niż początkowo przypuszczano, spowodowały zintensyfikowanie badań nad funkcją różnych ich typów [1]. Wydaje się, że takiego zainteresowania doczekały się także badania nad rolą gleju w tzw. okołodobowej plastyczności (ang. *circadian plasticity*) układu nerwowego [11, 29].

Plastyczność okołodobowa to szczególny rodzaj plastyczności, której istotę stanowią rytmiczne (o około 24-godzinnym okresie rytmu) zmiany morfologii i fizjologii struktur nerwowych. Podobnie jak okołodobowe oscylacje natężenia różnorodnych procesów biologicznych w innych tkankach lub narządach, jest ona wyrazem ewolucyjnego przystosowania się organizmu do dobowej rytmiki zmian zachodzących w jego środowisku zewnętrznym. Dobowe oscylacje natężenia światła (cykl dzień/noc), a także oscylacje temperatury, wilgotności i innych fizyko-chemicznych parametrów środowiska istotnie wpływają na procesy życiowe organizmów. Nic więc dziwnego, że na skutek adaptacji wytworzyły one endogenne oscylatory (ang. *pacemaker*), tzw. zegar biologiczny (ryc.1), który generuje rytmikę procesów wewnętrznych i umożliwia jej synchronizację z egzogennym rytmem zmian środowiskowych [51, 52].

U ssaków główny generator rytmu (ang. *master clock*), znajduje się w jądrach nadskrzyżowaniowych podwzgórza mózgu (ang. *Suprachiasmatic Nuclei*, SCN), u ptaków, gadów i ryb w szyszynce, u mięczaków w oku, natomiast u owadów w płatach wzrokowych (świerszcze i karaczany) lub środkowej części mózgu (muchówki i motyle). Jego molekularny mechanizm opiera się na oscylacjach natężenia transkrypcji tzw. genów zegarowych [26]. Na przykład w neuronach zegara u muszki owocowej, *Drosophila melanogaster* (ryc.2A) w ciągu doby oscyluje natężenie transkrypcji genów *sprawiających bezpośrednią kontrolę nad rytmiką okołodobową, period (per)* i *timeless (tim)* (ryc. 2B). Jest to możliwe dzięki temu, że kodowane przez te geny białka Per i Tim regulują pętlę głównego, ujemnego sprzężenia zwrotnego (ang. *the core loop*) (ryc. 2C) w tych neuronach: łączą się ze sobą i jako stabilne heterodimery (Per-Tim) wchodzi do jądra komórkowego, gdzie hamują transkrypcję swoich własnych genów [19, 20, 26]. Molekularny mechanizm zegara ssaków także opiera się na rytmicznej ekspresji genów zegarowych, przy czym kluczowymi genami zegarowymi są w tym przypadku geny *Per (Per1, Per2)* i *Cryptochrome (Cry1, Cry2)*, i to ich ekspresja jest regulowana na zasadzie ujemnego sprzężenia zwrotnego [26, 31].



**RYCINA 1.** Podstawowe cechy zegara biologicznego (A) i rytmów okołodobowych (B). **A)** Główną część zegara stanowi endogenny oscylator wysyłający rytmiczny sygnał do narządów efektorowych, które wykazują rytmikę procesów biologicznych. Zmieniające się w rytmie dobowym czynniki środowiska dostarczają do zegara informacji o upływającym czasie, przez co pełnią rolę tzw. dawców czasu lub synchronizatorów (niem. *Zeitgebers*). U podstaw mechanizmu generującego rytm w komórkach zegara leżą dobowe oscylacje w poziomie ekspresji genów zegarowych. **B)** Krzywa przedstawiająca dobową rytmikę procesu biologicznego. Każdy z punktów krzywej stanowi charakterystyczną fazę rytmu. W warunkach dnia i nocy (LD) okres rytmu, czyli jego pełny cykl, wynosi 24 godziny. W stałych warunkach środowiska, gdy brak jest dawcy czasu, na przykład w stałej ciemności (DD) uzyskiwanej w warunkach laboratoryjnych, autonomiczny zegar nadal „chodzi”, ale w charakterystycznym dla siebie tempie. Generuje rytm swobodnie biegnący (ang. *free-running*) o okresie nieco dłuższym lub krótszym od 24 godzin. Jest to rytm okołodobowy (circadianny, z łac. *circa*-około, *dies*-dzień)

**FIGURE 1.** Basic characteristics of the biological clock (A) and the circadian rhythms (B)

Choć główny nurt badań komórkowych nad rytmiką okołodobową zawsze dotyczył neuronów zegara, to nie są one jedynymi komórkami w układzie nerwowym, w których zachodzi ekspresja genów zegarowych. Ekspresję genów *Per* (*Per1*, *Per2*) wykryto także w astrocytach ssaków [23, 36], natomiast w mózgu

muszki owocowej gen *per* ulega ekspresji w wielu typach komórek glejowych, przede wszystkim jednak w gleju neuropilu, który określa się jako glej podobny do astrocytów (ang. *astrocyte-like glia*) [23]. Oprócz *per*, w komórkach glejowych muszki owocowej wykryto także ekspresję genu *timeless* [23, 46]. Ponieważ poziom *Per* (a także *Tim*) w tych komórkach zmienia się w ciągu doby podobnie jak w neuronach zegara, to najwyraźniej dysponują one mechanizmem generującym oscylacje i mogą wchodzić w skład okołodobowego systemu zegarowego organizmu [23].

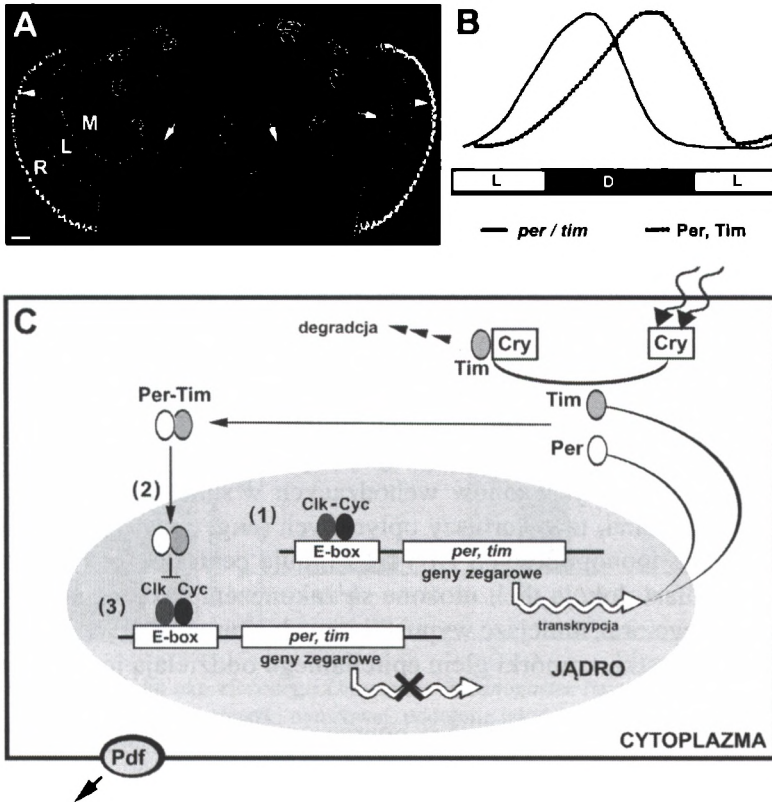
W dalszej części tego artykułu dokonano przeglądu najnowszych badań nad rolą komórek glejowych w generowaniu oraz regulacji okołodobowej rytmiki struktur nerwowych. W pracy przedstawiono badania prowadzone na ssakach oraz na muchówkach (*Diptera*), przy czym w tym drugim przypadku głównie na muszce owocowej, *Drosophila melanogaster*.

## KOMÓRKI GLEJOWE MUCHÓWEK I RYTMY OKOŁODOBOWE

### RYTMIKA ZMIAN STRUKTURALNYCH

**Bardzo wygodnym układem modelowym** w badaniach nad zjawiskiem plastyczności okołodobowej jest układ wzrokowy *Diptera*, a zwłaszcza jego pierwszy neuropil wzrokowy (lamina), który przejawia silną rytmikę dobową (ryc. 2A, ryc. 3). W neuropilu tym zaobserwowano na przykład dobowe zmiany wielkości niektórych typów neuronów oraz komórek glejowych, a także dobowe zmiany w liczebności synaps i ekspresji białka budującego struktury presynaptyczne, Bruchpilot [15, 17, 37, 39].

Badania przeprowadzone na trzech gatunkach much; musze domowej (*Musca domestica*), muszce owocowej (*Drosophila melanogaster*) oraz musze plujcej (*Calliphora vicina*) wykazały, że aksony tzw. dużych komórek monopolarnych L1 i L2 (ang. *Large Monopolar Cells*, LMS), czyli interneuronów, które odbierają informacje świetlne i wzrokowe od fotoreceptorów (ryc. 3C), zmieniają swoją wielkość w ciągu doby [37, 39]. Gdy *M. domestica* jest hodowana w warunkach dnia i nocy (12 godzin światła i 12 godzin ciemności; LD 12:12), są one większe na początku dnia, a mniejsze w czasie nocy (ryc. 3E). W przypadku L2 fluktuacje te utrzymują się także w warunkach stałej ciemności (DD), co oznacza, że mają one charakter endogeny, tj. są generowane przez okołodobowy zegar biologiczny [37, 39].



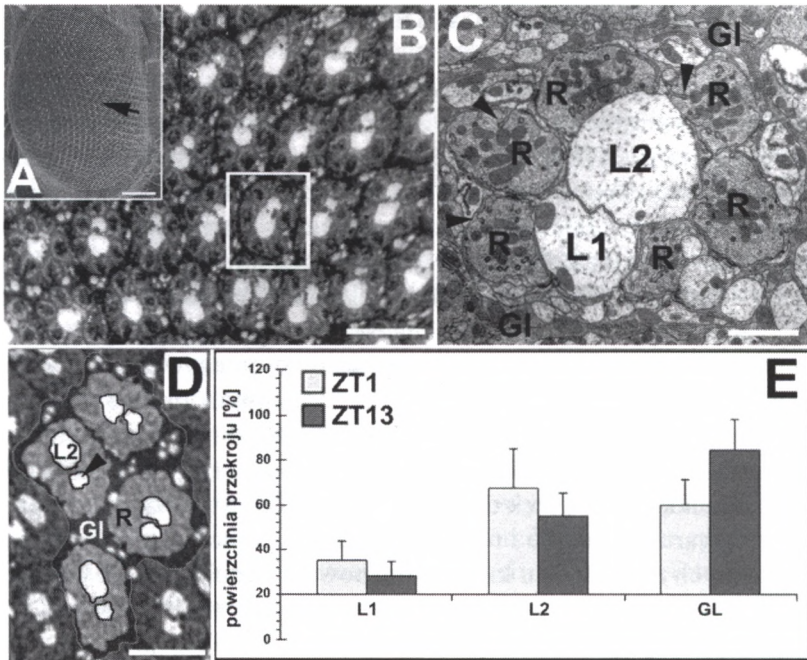
**RYCINA 2. A)** Mózg i układ wzrokowy *Drosophila melanogaster*. W tkance wybarwiono jądra komórek, które wykazują ekspresję genu *per*. Są to jądra komórkowe neuronów głównego oscylatora okołodobowego, tzw. neuronów zegara (obrysowane grupy jąder), jądra komórkowe fotoreceptorów oka złożonego (groty strzałek), a także jądra komórek glejowych (strzałki). R – siatkówka oka złożonego, L – pierwszy neuropil wzrokowy, czyli lamina, M – drugi neuropil wzrokowy, czyli medulla. Skala: 10 μm. **B)** Dobowe zmiany w poziomie ekspresji genów *per* i *tim* w neuronach zegara *D. melanogaster*. Najwyższy poziom transkryptów mRNA tych genów (linia ciągła) występuje na początku nocy, natomiast najwyższy poziom ich białkowych produktów (linia punktowa) pod koniec nocy. Przesunięcie fazy dobowego rytmu białek Per i Tim w stosunku do fazy rytmu odpowiedniego mRNA sugeruje występowanie sprzężenia zwrotnego między syntezą tych białek a transkrypcją kodujących je genów. **C)** Schemat głównej pętli molekularnego mechanizmu zegara biologicznego *D. melanogaster*, czyli pętli ujemnego sprzężenia zwrotnego, która indukuje znaczne zmiany w poziomie ekspresji genów w ciągu doby. Podczas dnia, w neuronach zegara heterodimery białek Clock i Cycle (Clk-Cyc) aktywują transkrypcję genów *per* i *tim* wiążąc się z sekwencją E-box w obrębie ich promotorów (1). W ciągu nocy syntetyzowane są białka Per i Tim, które po utworzeniu heterodimerów Per-Tim przemieszczają się do jądra komórkowego (2), gdzie hamują transkrypcję swoich własnych genów (3).

Transkrypcja *per* i *tim* jest wznawiana dopiero rano następnego dnia, gdy poziom kodowanych przez te geny białek ulega obniżeniu na skutek degradacji. W degradację *Tim* zaangażowane jest białko kryptochromu (*Cry*), które u muszki owocowej pełni funkcję fotoreceptora światła niebieskiego. W godzinach porannych, pod wpływem światła, białko to ulega aktywacji i to ono zaczyna tworzyć z białkiem *Tim* kompleksy, które są szybko degradowane w proteosomach. Zależna od światła degradacja *Tim* umożliwia synchronizację pracy zegara z lokalnym rytmem dnia i nocy. Niektóre spośród neuronów zegara wykazują ekspresję czynnika rozpraszającego pigment (ang. *Pigment dispersing factor*, *Pdf*), czyli neuropeptydu, który jest sygnałem dróg wyjścia. Więcej informacji na temat molekularnego mechanizmu zegara okołodobowego *D. melanogaster* znajduje się w cytowanych pracach przeglądowych [19, 20, 26, 31]

**FIGURE 2.** A) *Per*-expressing cells of the brain and the visual system of *Drosophila melanogaster*. B) Diurnal expression profiles of *per* and *tim* RNAs and proteins. C) The core loop of the molecular mechanism of the circadian clock

Co ciekawe, opisanym powyżej zmianom strukturalnym L1 i L2 towarzyszą rytmiczne zmiany morfologii pobliskiego gleju epitelialnego (ryc. 3) [15, 23, 37] Glej ten otacza kolumny aksonów wchodzących w skład jednostek synaptycznych neuropilu lamina, tzw. kartuszy optycznych (ang. *cartridges*) (ryc. 3C, D). Aksony komórek monopolarnych L1 i L2 zajmują centralną pozycję w każdym kartuszu, natomiast dokoła nich ułożone są zakończenia aksonalne fotoreceptorów oka złożonego oraz mniejsze wypustki innych neuronów (ryc. 3C). Otaczając wszystkie te wypustki, komórki gleju epitelialnego oddzielają je od wypustek sąsiednich kartuszy.

Analiza powierzchni przekrojów poprzecznych przez komórki tego gleju (ryc. 3D) wykazała, że ich wielkość zmienia się w ciągu doby: są znacznie większe w nocy niż w dzień, a zatem odwrotnie niż aksony L1 i L2 (ryc. 3E) [15, 38, 39]. Co ciekawe, komórki gleju epitelialnego wpływają na zmiany wielkości aksonów L1 i L2. Pod wpływem glejotoksyn, które zaburzają metabolizm gleju zmienia się bowiem dobowy wzorzec zmian strukturalnych nie tylko komórek glejowych, ale też interneuronów L1, L2 [15, 23, 38]. Fluorocytrynian (FL) i jodoctan (IAA), które zaburzają w komórkach glejowych cykl Krebsa, powodują, że amplituda obserwowanych zmian wielkości aksonów L1 i L2 znacznie wzrasta; w ciągu dnia są one jeszcze większe, natomiast w nocy jeszcze mniejsze niż aksony osobników kontrolnych. Z kolei zastosowanie oktanolu, który zamyka połączenia szczelinowe pomiędzy komórkami, a więc zaburza komunikację międzykomórkową, powoduje zanik rytmiki zmian strukturalnych gleju i neuronów [6, 15, 23, 38]. Dobowe zmiany morfologii aksonów L1 i L2, a zwłaszcza amplituda tych zmian, są więc uwarunkowane prawidłowym działaniem „rytmicznego” gleju epitelialnego, który znajduje się w ich sąsiedztwie. W neuronach L1 i L2 nie wykryto jak dotąd ekspresji genów zegarowych, a zatem nie wydaje się, aby one same dysponowały mechanizmem generującym dobowe zmiany plastyczne obserwowane w morfologii ich aksonów.



**RYCINA 3. A)** Siatkówka oka złożonego *Drosophila melanogaster* na zdjęciu z mikroskopu elektronowego skaningowego. Oko muszki owocowej, podobnie jak oczy innych much, zbudowane jest z pojedynczych oczek zwanych ommatidiami (strzałka). Skala: 100  $\mu\text{m}$ . **B)** Fragment pierwszego neuropilu wzrokowego (lamina) *Musca domestica* w przekroju poprzecznym. Neuropil ten, podobnie jak leżąca nad nim siatkówka, ma budowę modułową. Składa się z tzw. kartuszy optycznych (pojedynczy kartusz w ramce) będących jednostkami synaptycznymi tego neuropilu. Skala: 10  $\mu\text{m}$ . **C)** Kartusz muchy domowej na mikrografii z mikroskopu elektronowego transmisyjnego (TEM). Głównymi elementami każdego kartusza są zakończenia nerwowe sześciu fotoreceptorów (R) oraz aksony interneuronów, które odbierają od fotoreceptorów informacje świetlne i wzrokowe, czyli aksony dużych komórek monopolarnych L1 i L2. Każdy kartusz otaczają trzy komórki gleju epitelialnego (GI). Ich wypustki wnikają pomiędzy budujące kartusz aksony, a także do środka zakończeń fotoreceptorów, gdzie tworzą charakterystyczne inwaginacje zwane strukturami główkowatymi (groty strzałek). Skala: 1  $\mu\text{m}$ . **D)** Neuropil z oznakowanymi do pomiaru konturami komórek L1 (grot strzałki), L2 oraz gleju epitelialnego (GI) otaczających cztery sąsiadujące ze sobą kartusze. Skala: 10  $\mu\text{m}$ . **E)** Dobowe zmiany powierzchni przekroju poprzecznego aksonów L1, L2 oraz komórek gleju epitelialnego (wartości średnie  $\pm$  odchylenie standardowe). Powierzchnia przekroju aksonów L1 i L2 jest większa na początku dnia niż na początku nocy, natomiast powierzchnia przekroju epitelialnych komórek glejowych (GI) jest większa na początku nocy niż na początku dnia. ZT1 – godzina po rozpoczęciu fazy jasnej (dnia), ZT13 – godzina po rozpoczęciu fazy ciemnej (nocy)

**FIGURE 3. A)** Scanning electron micrograph of *D. melanogaster* compound eye. **B)** The modular structure of the first visual neuropil or lamina. The lamina is composed of cylindrical units called cartridges (single cartridge in a box). **C, D)** The main elements of each cartridge, the axons of L1, L2 monopolar cells (L1, L2) and the surrounding epithelial glia (GI) display daily changes in their cross-sectional area (**E**)

## RYTMIKA POZIOMU EKSPRESJI $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPAZY

Rytmicznym zmianom wielkości aksonów neuronów L1 i L2 oraz komórek gleju epitelialnego towarzyszą dobowe zmiany w poziomie ekspresji pompy sodowo-potasowej ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPazy) [15, 16], pełniącej kluczową rolę w utrzymaniu homeostazy jonowej komórek. Pompa ta przy wykorzystaniu energii pochodzącej z ATP transportuje jony potasowe i sodowe wbrew gradientowi ich stężeń [24, 40]. W układzie nerwowym *D. melanogaster* utrzymuje ona aktywność enzymatyczną, gdy składa się z dwóch podjednostek; podjednostki  $\alpha$  o właściwościach katalitycznych i podjednostki  $\beta$  o właściwościach regulacyjnych [42].

Badania nad dobową ekspresją pompy sodowo-potasowej w układzie wzrokowym *D. melanogaster* pokazały, że ulega ona istotnym zmianom w przypadku podjednostki  $\alpha$ . W ciągu doby zmienia się zarówno ilość transkryptu (mRNA), jak i białka [15, 16]. Poziom ekspresji jest najwyższy na początku nocy, natomiast najniższy w środku nocy. U muszek dzikiego szczepu Canton-S zmiany te obserwuje się zarówno w warunkach dnia i nocy, jak i stałej ciemności, natomiast u muszek *per<sup>0</sup>*, arytmicznych mutantów, u których nie powstaje funkcjonalne białko Per, nie są one w ogóle widoczne, co świadczy o ich endogennym charakterze [16].

Ważną rolę w tej rytmice zdają się odgrywać komórki glejowe. Barwienie immunohistochemiczne pokazujące lokalizację podjednostki  $\alpha$  w układzie wzrokowym *D. melanogaster* wykazało, że poziom tego białka jest szczególnie wysoki w komórkach glejowych, zwłaszcza w ich błonie komórkowej, gdzie białko to utrzymuje aktywność enzymatyczną [15, 16]. Można przypuszczać, że obserwowane w ciągu doby oscylacje poziomu ekspresji podjednostki  $\alpha$ , choć nie pochodzą wyłącznie z komórek glejowych, to jednak w dużym stopniu są w nich właśnie generowane.

Oprócz aktywności enzymatycznej pompa sodowo-potasowa wykazuje także aktywność adhezyjną, bierze udział w tworzeniu połączeń międzykomórkowych oraz transdukcji sygnału [34, 40]. Może to oznaczać, że zegar biologiczny reguluje w tych komórkach także i te funkcje. Wyjaśnienie tych kwestii wymaga jednak dalszych badań.

## RYTMIKA POZIOMU EKSPRESJI BIAŁKA EBONY

Gen *ebony*, który ulga ekspresji w naskórku oraz mózgu *D. melanogaster* koduje białko o aktywności enzymatycznej – syntetazę przyłączającą  $\beta$ -alaninę do amin, np. histaminy, dopaminy czy serotoniny. Mutacja tego genu objawia się czarnym zabarwieniem kutikuli owada (stąd nazwa *ebony*), zmianami w układzie wzrokowym (zmieniony wzór elektroretinogramu), a także zaburzeniami w dobowej rytmice aktywności lokomotorycznej i zachowań godowych [23, 46]. Ostat-



nia spośród wymienionych cech fenotypowych tej mutacji wyraźnie wskazuje na związek Ebony z funkcjonowaniem zegara okołodobowego.

Co ciekawe, w układzie nerwowym gen *ebony* ulega ekspresji wyłącznie w komórkach glejowych [6, 23], a poziom jego ekspresji wykazuje rytmikę dobową [46]. W płatach wzrokowych Ebony jest syntetyzowane przez wspomniany wcześniej glej epitelialny lamina, a także glej drugiego neuropilu wzrokowego, czyli neuropilu medulla [6, 7]. W warunkach dnia i nocy, a także stałej ciemności, poziom jego mRNA jest najwyższy na początku dnia lub subiektywnego dnia (czyli tej części doby w DD, która odpowiada początkowi dnia w LD). Na początek dnia przypada także maksimum ekspresji białka [46].

Fakt, że oscylacje te utrzymują się w stałej ciemności, natomiast nie występują u arytmicznych mutantów zegara biologicznego, np. *per<sup>0</sup>* lub *tim<sup>0</sup>* (mutant, u którego nie powstaje funkcjonalne białko Tim) wyraźnie wskazuje na ich endogenne pochodzenie [46]. Regulując w ciągu doby poziom ekspresji *ebony*, zegar biologiczny może sprawować kontrolę nad procesami nerwowymi, w których uczestniczy kodowane przez ten gen białko. Na przykład w komórkach gleju epitelialnego, które bezpośrednio przylegają do histaminergicznych zakończeń fotoreceptorów oka złożonego będzie to dobowa regulacja transportu zwrotnego histaminy [6, 23, 46].

Dotychczasowe badania wskazują na to, że komórki glejowe, które syntetyzują Ebony (komórki te syntetyzują także białka Per i Tim) odgrywają ważną funkcję w okołodobowej plastyczności struktur nerwowych [23]. Na przykład komórki gleju epitelialnego lamina, w których ekspresja *ebony* utrzymuje się na wysokim poziomie wykazują dobowe zmiany morfologii i regulują podobne zmiany w neuronach L1 i L2 (opisane powyżej). Z kolei glej neuropilu zewnętrznej części medulla najprawdopodobniej pośredniczy w przesyłaniu informacji okołodobowych z neuronów zegara do komórek docelowych. Komórki tego gleju występują w pobliżu zakończeń nerwowych neuronów zegara, z których jest uwalniany neuropeptyd PDF [16]. Jest to jedyny, dobrze poznany do tej pory neuroprzekaźnik zegara uczestniczący w przekazywaniu sygnałów do komórek docelowych (np. sygnałów modulujących aktywność lokomotoryczną) [48, 49]. Komórki glejowe, w których zachodzi ekspresja genu *ebony* biorą udział w regulacji dobowej rytmiki aktywności lokomotorycznej [6, 23, 46]. Wywołanie ekspresji *ebony* w komórkach glejowych arytmicznych mutantów *ebony* (ang. *rescue experiment*) przywraca tym owadom dobową rytmikę aktywności lokomotorycznej [46]. Bezpośredni związek pomiędzy ekspresją białka Ebony w gleju a dobową rytmiką aktywności owada dowodzi, że mamy do czynienia z pierwszym czynnikiem pochodzenia glejowego, który bierze udział w regulacji rytmiki behawioralnej [23, 46]. Przyпуска się, że Ebony może modulować sygnalizację dopaminergiczną [8, 46]. Białko to najprawdopodobniej wpływa na aktywność dopaminy poprzez cykliczne tworzenie i uwalnianie N-β-alaninodopaminy [8, 46], która z kolei reguluje aktywność lokomotoryczną zwierzęcia [41].

Ważną rolę oscylatorów glejowych w kontroli nad rytmem aktywności lokomotorycznej *D. melanogaster* potwierdzają także najnowsze badania, które wykazały, że arytmiczność aktywności lokomotorycznej wywołują także manipulacje genetyczne zaburzające w komórkach glejowych takie procesy komórkowe, jak: transport pęcherzykowy, gradient jonowy błony, czy sygnalizacja wapniowa [32]. Te same badania również wykazały, że glej przypominający astrocyty przesyła informacje do neuronów zegara i wpływa na ich działanie [32]. Fakt, że zegary glejowe mogą modulować pracę zegarów neuronalnych dowodzi istnienia partnerskich relacji między neuronami a komórkami glejowymi, także i w tym aspekcie ich funkcjonowania.

## ASTROCYTY SSAKÓW I RYTMY OKOŁODOBOWE

Podobnie jak niektóre typy gleju bezkręgowców, także astrocyty kręgowców wykazują cechy oscylatorów okołodobowych [23, 36]. Badania prowadzone na pierwotnych hodowlach astrocytów z kory mózgowej szczura i myszy wykazały, że zachodzą w nich rytmiczne, dobowe zmiany w poziomie ekspresji genów zegarowych *Per1* i *Per2* [36]. Wprawdzie w takich warunkach komórki te wykazują cechy jedynie słabych oscylatorów (ang. *damped circadian oscillators*), gdyż obserwowane oscylacje zanikają po kilku dniach, ale zmieniają fazę rytmu w odpowiedzi na sygnały ze środowiska, co oznacza, że w sposób charakterystyczny dla komórek zegara synchronizują swoją rytmikę z rytmiką dobową otoczenia [36]. Oprócz tego, że wykazują rytmiczną ekspresję genów *Per*, astrocyty syntetyzują i uwalniają w rytmie dobowym cząsteczki sygnałowe, np. ATP [50], a ich morfologia ulega dobowym zmianom, które są skorelowane ze zmianami strukturalnymi odpowiednich neuronów [4].

## RYTMIKA ZMIAN STRUKTURALNYCH W SCN

**Jak dowiodły badania na gryzoniach,** struktura nerwowa SCN ulega plastycznym zmianom w ciągu doby. Dobową plastyczność strukturalną można zaobserwować na przykładzie tzw. neuronów VIP i neuronów AVP (głównych połączeń eferentnych w SCN szczura), oraz towarzyszących im astrocytów [4, 13].

Neurony VIP leżą w brzusznej części SCN zwanej rdzeniem (ang. *the core region of SCN*) i syntetyzują naczyniowoaktywny peptyd jelitowy (ang. *Vasoactive Intestinal Peptide*, VIP). Neurony te przekazują sygnały z siatkówki do grzbietowo-przyśrodkowej części SCN (ang. *the shell region of SCN*), gdzie z ko-

lci występują syntetyzujące arginino-wazopresynę neurony AVP (ang. *Arginine Vasopressin Peptide*, AVP) przesyłające sygnały okołodobowe dalej, do różnych części mózgu. Obydwa typy neuronów, VIP i AVP, są otoczone przez wypustki astrocytów, które w SCN tworzą gęstą sieć komórkową. (W porównaniu z neuronami np. przedniej części podwzgórza, neurony SCN są w znacznie większym stopniu pokryte przez astrocyty [12]).

Neurony VIP, AVP oraz towarzyszące im astrocyty wykazują rytmiczne zmiany morfologiczne na poziomie ultrastruktury. Na przykład liczba synaps występujących na neuronach VIP (wśród nich synaps glutaminergicznych przesyłających informacje świetlne) jest o 36% większa w dzień niż w nocy [13]. Także sieć astrocytów jest gęstsza w dzień, niż na początku nocy. Oprócz tego zauważono, że w rytmie dobowym zmienia się powierzchnia kontaktu między wypustkami astrocytów a dendrytami neuronów VIP i AVP na skutek cyklicznych zmian w morfologii gleju [4]. W nocy dendryty neuronów VIP zmniejszają kontakt z zakończeniami aksonalnymi innych neuronów (- 43%), natomiast zwiększają kontakt z glejem, gdyż są w większym stopniu pokryte przez astrocyty (+ 29 %). Inaczej jest w przypadku neuronów AVP. Ich dendryty zmniejszają kontakt z glejem (-19%) w ciągu nocy [4]. Jak widać na przykładzie neuronów VIP i AVP, wzór dobowych zmian powierzchni kontaktu pomiędzy astrocytami a neuronami może być różny dla różnych typów neuronów [4]. Ujawnia to dodatkowy aspekt plastyczności strukturalnej SCN, która okazuje się być istotna we wzajemnej synchronizacji różnych typów komórek, w tym neuronów i astrocytów [5].

Kluczowym czynnikiem umożliwiającym synchronizację neuronów i astrocytów jest wspomniany wcześniej neuropeptyd VIP. Neuropeptyd ten działa przede wszystkim na neurony [2, 12], jednak wpływa także na astrocyty. Regulując dobową rytmikę aktywności neuronów GnRH, czyli neuronów wytwarzających hormon pobudzający przysadkę mózgową do uwalniania gonadotropin, wpływa na ich aktywność nie tylko bezpośrednio, ale i za pośrednictwem astrocytów, w których wywołuje rytmiczne, dobowe zmiany morfologii [12]. (Astrocyty, podobnie jak neurony GnRH, posiadają receptory dla VIP). Jak wykazano, pod wpływem VIP powierzchnia astrocytów zwiększa się na początku dnia, a maleje w okresie popołudniowym, przy czym fluktuacji tych nie obserwuje się, gdy aktywność VIP jest zahamowana poprzez wstawienie nonsensownej sekwencji nukleotydów do genu kodującego ten neuropeptyd [12]. Przypuszcza się, że zmiana powierzchni astrocytów może wpływać na pobudzenie neuronów GnRH; w okresie popołudniowym, gdy powierzchnia astrocytów ulega zmniejszeniu, neurony te są odślaniane przez glej, co sprzyja tworzeniu się synaps, a zatem i ich pobudzeniu do uwalniania GnRH [12]. Z kolei w astrocytach korowych utrzymywanych w hodowli *in vitro*, podanie VIP nie tylko podtrzymuje dobowy rytm białka Per 2, ale także wywołuje zależne od dawki oraz czasu jego podania przesunięcia fazy tego rytmu [23, 28].

## RYTMIKA ZMIAN POZIOMU EKSPRESJI GFAP

Oprócz dobowych zmian strukturalnych, w SCN obserwuje się także dobowe oscylacje w poziomie ekspresji GFAP, czyli kwaśnego glicyjowego białka włóknikowego (ang. *Glial Fibrillary Acidic Protein*, GFAP) [4], odgrywającego kluczową rolę w organizacji cytoszkieletu astrocytów.

Ilość GFAP w brzuszno-bocznej części SCN szczura zmienia się w sposób rytmiczny. Jest go najwięcej w środku nocy (czyli wtedy, gdy zwiększa się powierzchnia kontaktu astrocytów z neuronami VIP), natomiast mniej podczas dnia. Poniważ jednak fluktuacje te nie utrzymują się w warunkach stałej ciemności (DD), to jest to rytm egzogeny, wynikający nie tyle z pracy zegara biologicznego, co z bezpośredniej reakcji na zmianę warunków świetlnych [4].

Wpływ zegara na dobową rytmikę GFAP jest widoczny w SCN chomika. U tego gryzonia rytm GFAP utrzymuje się także w stałej ciemności (DD), przy czym w DD ma on mniejszą amplitudę i jest przesunięty w fazie [27]. Przeprowadzone badania wykazały, że oprócz warunków świetlnych na amplitudę rytmu GFAP wpływają także hormony steroidowe (u szczurów o obniżonym poziomie kortykosteronu jest ona mniejsza nawet o 50 %), które stanowią ważny element dróg wyjścia zegara okołodobowego [4, 25]. Regulacja rytmiki GFAP przez hormony steroidowe odbywa się na zasadzie sprzężenia zwrotnego. Uwalnianie w sposób rytmiczny (dzięki wpływowi SCN) męskie hormony płciowe (androgeny) oddziałują na SCN poprzez licznie występujące tam receptory dla androgenów (AR) [25]. Pomimo oczywistego wpływu zegara na rytm GFAP w SCN chomika, także i w tym przypadku rytm ten jest w głównej mierze regulowany przez zewnętrzny cykl światła i ciemności, o czym świadczy fakt, że w warunkach LL oraz u zwierząt, które nie widzą, rytm ten całkowicie zanika [27].

Obserwowana w brzusznej części SCN rytmika GFAP wydaje się być dobrym wskaźnikiem dobowej plastyczności strukturalnej astrocytów. Jej duża wrażliwość na warunki świetlne otoczenia sugeruje, że obserwowane w SCN zmiany strukturalne i związany z nimi rytm GFAP, służą synchronizacji pracy endogenego zegara z rytmiką zmian środowiskowych [4, 5]. Potwierdziły to także badania wykazujące, że w regulację dobowych zmian morfologii astrocytów SCN zaangażowany jest czynnik wzrostu pochodzenia mózgowego (ang. *Brain-Derived Neurotrophic Factor*, BDNF), który jest znany ze swojej roli w synchronizacji okołodobowej rytmiki SCN do warunków świetlnych [14]. Wydaje się, że BDNF, który ulega ekspresji w SCN w rytmie okołodobowym, może regulować zmiany strukturalne w SCN zarówno poprzez modulację neuroprzekazywania z siatkówki, jak i synchronizację oscylatorów komórkowych budujących SCN [14].

## RYTMIKA ZMIAN STĘŻENIA ATP

W SCN szczura zaobserwowano także okołodobowe zmiany stężenia adenozyntroójfosforanu (ATP) [30, 33, 50], który w układzie nerwowym jest nie tylko źródłem energii, lecz także glioprzekaźnikiem (ang. *gliotransmitter*) biorącym udział w komunikacji pomiędzy astrocytami oraz między astrocytami a neuronami [21, 35, 43].

Po uwolnieniu do przestrzeni zewnątrzkomórkowej ATP jest konwertowany przez ektonukleotyduzę do ADP, AMP, czy adenozyny. Dla każdej z tych cząsteczek, na neuronach i wszystkich rodzajach komórek glejowych występują specyficzne receptory purynergiczne (np. receptor P2 dla ATP i ADP, a P1 dla adenozyny), które uaktywniają wtórne przekaźniki informacji wewnątrzkomórkowej takie jak wapń, cAMP, czy IP3 (inozytolo-[1,4,5]-trifosforan). Uaktywniany jest także tlenek azotu (NO) i odgrywająca kluczową rolę w lipidowych szlakach przekazywania sygnałów w komórce fosfolipaza C. Obecność ATP w przestrzeni międzykomórkowej wywołuje powstawanie w komórkach glejowych fali wapniowej. ATP może także działać jako czynnik wzrostu, który wpływa na różnicowanie komórek nerwowych i glejowych [10].

Okołodobowa rytmika ATP jest widoczna w warunkach *in vitro* i *in vivo*. W przestrzeni międzykomórkowej heterogennych kultur komórkowych SCN, które oprócz neuronów zawierają też liczne astrocyty (SCN2.2), poziom ATP zmienia się w ciągu doby [50]. Okołodobowe oscylacje tego glioprzekaźnika widoczne są również w SCN *in vivo*. Zegar biologiczny kontroluje również ekspresję genów zaangażowanych w regulację ścieżki metabolicznej i sygnalizacyjnej ATP w komórkach SCN2.2 oraz komórkach SCN *in vivo* [30, 33].

24-godzinne oscylacje poziomu ATP są także widoczne w medium komórkowym pierwotnych hodowli komórkowych astrocytów korowych. Jego stężenie jest niewielkie podczas dnia, natomiast gwałtowne rośnie na początku nocy [50]. Obecność rytmiki ATP w innym niż SCN modelu badawczym sugeruje, że cząsteczka ta jest ważnym elementem dróg wyjścia nie tylko głównego zegara w SCN, ale też oscylatorów w innych częściach mózgu [50].

## DOBOWE ZMIANY POZIOMU EKSPRESJI TRANSPORTERA GLUTAMINIANU W SCN SSAKÓW

Wydaje się, że w SCN ssaków rytmicznym, dobowym zmianom może także ulegać poziom ekspresji transportera glutaminianu. Glutaminian (kwas glutaminowy) jest głównym neuroprzekaźnikiem pobudzającym w centralnym układzie

nerwowym (CUN) kręgowców. Jego natychmiastowe usuwanie ze szczeliny synaptycznej jest niezwykle ważne nie tylko ze względu na szybkość przekazywania synaptycznego, lecz także ze względu na neurotoksyczność tego aminokwasu [18]. Podstawowym mechanizmem inaktywacji glutaminianu jest jego aktywne pobieranie zwrotne ze szczeliny synaptycznej przez neurony i komórki glejowe.

W mózgu szczura glutaminian jest usuwany ze szczeliny synaptycznej przez trzy, zależne od jonów sodu transportery: GLAST (ang. *Glutamate Aspartate Transporter*), GLT-1 (ang. *Glutamate Transporter*) oraz EAAT1 (ang. *Excitatory Amino-Acid Transporter*). O ile trzeci z nich ulega ekspresji w neuronach, to dwa pierwsze występują w astrocytach [47]. Badania Spanagel i współautorów (2005) pokazały, że poziom ekspresji transportera GLAST w astrocytach SCN myszy podlega dobowym zmianom i jest najwyższy na samym początku dnia, a najniższy w nocy. Także poziom mRNA dla tego genu zmienia się rytmicznie [45]. Ponieważ nie sprawdzano, czy zmiany poziomu mRNA i białka utrzymują się także w stałych warunkach świetlnych, nie wiemy z całą pewnością czy są one kontrolowane przez zegar biologiczny. Wydaje się to jednak bardzo prawdopodobne, gdyż mutacje genów zegarowych (np. *Per* czy *Clock*) obniżają wychwyty glutaminianu w SCN. U mysiego mutantu *Per2* poziom ekspresji GLAST w astrocytach jest tak obniżony, że jest przyczyną drgawek, a nawet niedowładu ciała. Podobny fenotyp występuje u mutantu genu *Clock* [3].

Dotychczasowe wyniki badań nad dobowym profilem ekspresji transportera glutaminianu niewątpliwie wskazują na potrzebę dalszych badań w tym temacie. Jest to związane także z tym, że nie potwierdziła ich inna grupa badawcza. Beaulieu i współautorzy (2009) nie zaobserwowali dobowych zmian w poziomie GLAST mRNA, czy też okołodobowych zmian w poziomie wychwyty glutaminianu przez korowe astrocyty w SCN szczura i myszy [3].

## PODSUMOWANIE

Przeprowadzone do tej pory badania, choć w dużej mierze niekompletne i wymagające kontynuacji, dostarczyły już wielu dowodów na to, że komórki glejowe kręgowców i bezkręgowców aktywnie partycypują w regulacji okołodobowej plastyczności układu nerwowego. Komórki te wykazują w ciągu doby rytmiczne zmiany ekspresji ważnych dla funkcji nerwowych białek oraz zmiany morfologii, które modulują ich interakcje z neuronami i leżą u podstaw synchronizacji; wzajemnej synchronizacji komórek budujących SCN oraz synchronizacji endogennego oscylatora okołodobowego z rytmiką zmian środowiskowych. Wiemy także, że zegary glejowe mogą modulować pracę zegarów neuronalnych i podobnie jak te drugie wpływać na rytmikę zachowania organizmu. Wciąż natomiast za mało są znane cząsteczki sygnalizacyjne pochodzenia glejowego, które są wykorzystywane przez te komórki w przekazywaniu „okołodobowych” informacji [4, 23, 50].

## LITERATURA

- [1] ADLER EM. Focus issue: getting excited about glia. *Science Signaling* 2010; **147**: 11.
- [2] ATON SJ, COLWELL CS, HARMAR AJ, WASCHEK J, HERZOG ED. Vasoactive intestinal polypeptide mediates circadian rhythmicity and synchrony in mammalian clock neurons. *Nat Neurosci* 2005; **8**: 476-483.
- [3] BEAULÉ C, SWANSTROM A, LEONE MJ, HERZOG ED. Circadian modulation of gene expression, but not glutamate uptake, in mouse and rat cortical astrocytes. *PLoS ONE* 2009; **4**: e7476.
- [4] BECQUET D, GIRARDET C, GUILLAUMOND F, FRANÇOIS-BELLAN AM, BOSLER O. Ultrastructural plasticity in the rat suprachiasmatic nucleus. Possible involvement in clock entrainment. *Glia* 2008; **56**: 294-305.
- [5] BOSLER O, GIRARDET C, SAGE-CIOCCA D, JACOMY H, FRANÇOIS-BELLAN A, BECQUET D. Mechanisms of structural plasticity associated with photic synchronization of the circadian clock within the suprachiasmatic nucleus. *J Soc Biol* 2009; **203**: 49-63.
- [6] EDWARDS TN, MEINERTZHAGEN IA. The functional organization of glia in the adult brain of *Drosophila* and other insects. *Prog Neurobiol* 2010; **90**: 471-497.
- [7] EDWARDS TN, NUSCHKE AC, NERN A, MEINERTZHAGEN IA. Organization and metamorphosis of glia in the *Drosophila* visual system. *J Comp Neurol* 2012; **520**: 2067-2085.
- [8] EMERY P, FREEMAN MR. Glia got rhythm. *Neuron* 2007; **55**: 337-339.
- [9] EROGLU C, BARRÉS BA. Regulation of synaptic connectivity by glia. *Nature* 2010; **468**: 223-231.
- [10] FIELDS RD, BURNSTOCK G. Purinergic signalling in neuron-glia interactions. *Nat Rev Neurosci* 2006; **7**: 423-436.
- [11] FRENKEL L, CERIANI MF. Circadian plasticity: from structure to behavior. *Int. Rev Neurobiol* 2011; **99**: 107-138.
- [12] GERHOLD LM, WISE PM. Vasoactive intestinal polypeptide regulates dynamic changes in astrocyte morphology: impact on gonadotropin-releasing hormone neurons. *Endocrinology* 2006; **147**: 2197-2202.
- [13] GIRARDET C, BLANCHARD M, FERRACCI G, LÉVÉQUE C, MORENO M, FRANÇOIS-BELLAN A, BECQUET D, BOSLER O. Daily changes in synaptic innervation of VIP neurons in the rat suprachiasmatic nucleus: contribution of glutamatergic afferents. *Eur J Neurosci* 2010; **31**: 359-370.
- [14] Girardet C, Lebrun B, CAHIROL-POI MJ, TARDIVEL C, FRANÇOIS-BELLAN AM, BECQUET D, BOSLER O. Brain-derived neurotrophic factor/TrkB signaling regulates daily astroglial plasticity in the suprachiasmatic nucleus: electron-microscopic evidence in mouse. *Glia* 2013; **61**: 1172-7.
- [15] GÓRSKA-ANDRZEJAK J. Glia-related circadian plasticity in the visual system of *Diptera*. *Front Physiol* 2013; **4**: 36.
- [16] GÓRSKA-ANDRZEJAK J, SALVATERRA PM, MEINERTZHAGEN IA, KRZEPTOWSKI W, GÖRLICH A, PYZA E. Cyclical expression of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase in the visual system of *Drosophila melanogaster*. *J Insect Physiol* 2009; **55**: 459-468.
- [17] GÓRSKA-ANDRZEJAK J, MAKUCH R, STEFAN J, GÖRLICH A, SEMIK D, PYZA E. Circadian expression of the presynaptic active zone protein Bruchpilot in the lamina of *Drosophila melanogaster*. *Dev Neurobiol* 2013; **73**: 14-26.
- [18] HA JS, LIM HM, PARK SS. Extracellular hydrogen peroxide contributes to oxidative glutamate toxicity. *Brain Res* 2010; **1359**: 291-297.
- [19] HARDIN PE. Molecular mechanisms of circadian timekeeping in *Drosophila*. *Sleep and Biological Rhythms* 2009; **7**: 235-242.
- [20] HARDIN PE. Molecular genetic analysis of circadian timekeeping in *Drosophila*. *Adv Genet* 2011; **74**: 141-73.
- [21] HAYDON PG. Glia: listening and talking to the synapse. *Nat Rev Neurosci* 2001; **2**: 185-193.
- [22] JACKSON FR, HAYDON PG. Glial cell regulation of neurotransmission and behavior in *Drosophila*. *Neuron Glia Biol* 2008; **4**: 11-17.
- [23] JACKSON FR. Glial cell modulation of circadian rhythms. *Glia* 2011; **59**: 1341-1350.
- [24] KAPLAN JH. Biochemistry of Na,K-ATPase. *Annu Rev Biochem* 2002; **71**: 511-535.
- [25] KARATSOREOS IN, WANG A, SASANIAN J, SILVER R. A role for androgens in regulating circadian behavior and the suprachiasmatic nucleus. *Endocrinology* 2007; **148**: 5487-5495.

- [26] KRZEPTOWSKI WD. Molekularny mechanizm zegara okołodobowego, czyli jak organizmy mierzą czas. *Kosmos* 2012; **61**: 305-318.
- [27] LAVIALLE M, BEGUE A, PAPILLON C, VILAPLANA J. Modifications of retinal afferent activity induce changes in astroglial plasticity in the hamster circadian clock. *Glia* 2001; **34**: 88-100.
- [28] MARPEGAN L, KRALL TJ, HERZOG ED. Vasoactive intestinal polypeptide entrains circadian rhythms in astrocytes. *J Biol Rhythms* 2009; **24**: 135-143.
- [29] MEHNERT KI, CANTERA R. Circadian rhythms in the morphology of neurons in *Drosophila*. *Cell Tissue Res* 2011; **344**: 381-389.
- [30] MENGER GJ, LU K, THOMAS T, CASSONE VM, EARNEST DJ. Circadian profiling of the transcriptome in immortalized rat SCN cells. *Physiol Genomics* 2005; **21**: 370-381.
- [31] MOHAWK JA, GREEN CB, TAKAHASHI JS. Central and peripheral circadian clocks in mammals. *Annu Rev Neurosci* 2012; **35**: 445-62.
- [32] NG FS, TANGREDI MM, JACKSON FR. Glial cells physiologically modulate clock neurons and circadian behavior in a calcium-dependent manner. *Curr. Biol.* 2011; **21**: 625-634.
- [33] PANDA S, ANTOCH MP, MILLER BH, SU AI, SCHOOK AB, STRAUME M, SCHULTZ PG, KAY SA, TAKAHASHI JS, HOGENESCH JB. Coordinated transcription of key pathways in the mouse by the circadian clock. *Cell* 2002; **109**: 307-320.
- [34] PAUL SM, PALLADINO MJ, BEITEL GJ. A pump-independent function of the Na,K-ATPase is required for epithelial junction function and tracheal tube-size control. *Development* 2007; **134**: 147-155.
- [35] PEREA G, ARAQUE A. Glia modulates synaptic transmission. *Brain Res Rev* 2010; **63**: 93-102.
- [36] PROLO LM, TAKAHASHI JS, HERZOG ED. Circadian rhythm generation and entrainment in astrocytes. *J Neurosci* 2005; **25**: 404-408.
- [37] PYZA E. Circadian rhythms in the fly's visual systems. [w] Darlene A D [red.] *Encyclopedia of the Eye*. Oxford: Academic Press 2010; **1**: 302-311.
- [38] PYZA E, GÓRSKA-ANDRZEJAK J. Involvement of glial cells in rhythmic size changes in neurons of the housefly's visual system. *J Neurobiol* 2004; **59**: 205-215.
- [39] PYZA E, GÓRSKA-ANDRZEJAK J. External and internal inputs affecting plasticity of dendrites and axons of the fly's neurons. *Acta Neurobiol Exp* 2008; **68**: 322-333.
- [40] REINHARD L, TIDOW H, CLAUSEN MJ, NISSEN P. Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase as a docking station: protein-protein complexes of the Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase. *Cell Mol Life Sci* 2013; **70**: 205-222.
- [41] RIEMENSPERGER T, ISABEL G, COULOM H, NEUSER K, SEUGNET L, KUME K, ICHÉ-TORRES M, CASSAR M, STRAUSS R, PREAT T, HIRSH J, BIRMAN S. Behavioral consequences of dopamine deficiency in the *Drosophila* central nervous system. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; **108**: 834-839.
- [42] ROY M, SIVAN-LOUKIANOVA E, EBERL DF. Cell-type-specific roles of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase subunits in *Drosophila* auditory mechanosensation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; **110**: 181-186.
- [43] SCEMES E, GIAUME C. Astrocyte calcium waves: what they are and what they do. *Glia* 2006; **54**: 716-725.
- [44] SETH P, KOUL N. Astrocyte, the star avatar: redefined. *J Biosci.* 2008; **33**: 405-421.
- [45] SPANAGEL R, PENDYALA G, ABARCA C, ZGHOUL T, SANCHIS-SEGURA C, MAGNONE MC, LASCORZ J, DEPNER M, HOLZBERG D, SOYKA M, SCHREIBER S, MATSUDA F, LATHROP M, SCHUMANN G, ALBRECHT U. The clock gene *per2* influences the glutamatergic system and modulates alcohol consumption. *Nat Med* 2005; **11**: 35-42.
- [46] SUH J, JACKSON FR. *Drosophila* ebony activity is required in glia for the circadian regulation of locomotor activity. *Neuron* 2007; **55**: 435-447.
- [47] SWANSON RA, LIU J, MILLER JW, ROTHSTEIN JD, FARRELL K, STEIN BA, LONGUEMARE MC. Neuronal regulation of glutamate transporter subtype expression in astrocytes. *J Neurosci* 1997; **17**: 932-940.
- [48] TAGHERT PH, SHAFER OT. Mechanisms of clock output in the *Drosophila* circadian pacemaker system. *J Biol Rhythms* 2006; **21**: 445-457.
- [49] TOMIOKA K, MATSUMOTO A. A comparative view of insect circadian clock systems. *Cell Mol Life Sci* 2010; **67**: 1397-1406.



- [50] WOMAC AD, BURKEEN JF, NEUENDORFF N, EARNEST DJ, ZORAN MJ. Circadian rhythms of extracellular ATP accumulation in suprachiasmatic nucleus cells and cultured astrocytes. *Eur J Neurosci* 2009; **30**: 869-876.
- [51] ZAWILSKA JB, NOWAK JZ. Rytmika okołodobowa i zegar biologiczny. *Sen* 2002; **2**: 127-136.
- [52] ZAWILSKA JB, NOWAK JZ. Rytmy biologiczne – uniwersalny system odczytywania czasu. *Nauka* 2006; **4**: 129-133.

*Redaktor prowadzący – Bożena Kamińska*

*Otrzymano: 10.11.2013*

*Przyjęto: 12.11.2013*

*Jolanta Górka-Andrzejak*

*Zakład Biologii i Obrazowania Komórki, Instytut Zoologii*

*Uniwersytet Jagielloński*

*ul. Gronostajowa 9*

*30-387 Kraków*

*e-mail: j.gorska-andrzejak@uj.edu.pl*

