

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Fyziologie živočichů
specializace Neurobiologie



Bc. Kristýna Aleksić

Úloha 5-HT_{2A} receptorů ve spánkové architektuře
a konsolidaci paměti v animálním modelu

The role of 5-HT_{2A} receptors in sleep architecture
and memory consolidation in the animal model

Diplomová práce

Školitel: Mgr. Lucie Ladislavová, PhD.

Praha 2024

Prohlášení autora práce

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci vypracovala samostatně a uvedla jsem veškeré použité informační zdroje. Tato práce, ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného či stejného akademického titulu.

V Praze 10.12. 2024

A handwritten signature in black ink, reading 'Aleksić', written over a horizontal dotted line.

Bc. Kristýna Aleksić

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat své školitelce, Mgr. Lucii Ladislavové, PhD., za čas mně věnovaný, za pomoc při koncipování práce jako celku a přínosné poznámky k jednotlivým kapitolám, stejně tak za zasvěcení do statistické analýzy. Dále děkuji celé Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy za skvělé univerzitní zázemí, stejně tak celému vědeckému týmu MUDr. Tomáše Páleníčka, PhD. v Národním ústavu duševního zdraví za veškerou pomoc, zaučení a sdílení poznatků, a své rodině za veškerou podporu.

Abstrakt

Tato práce se zabývá serotoninovým systémem a jeho vlivem na spánek a konsolidaci paměti. Psilocybin, neuroplastické serotonergní psychedelikum, je v poslední době zkoumáno především pro svůj terapeutický potenciál. Změny spánku spojené s podáním neselektivního agonisty serotoninového receptoru psilocybinu a selektivního antagonisty receptoru 5-HT_{2A} – MDL100907, či jejich kombinaci jsme sledovali pomocí biotelemetrického zařízení 24 hodin po jejich podání ve dvou skupinách – se spánkovou deprivací a bez deprivace. Dále jsme sledovali, jak manipulace se spánkem a obsazení těchto receptorů ovlivňuje parametry spánku a zda má deprivace či modulace receptorů vliv na konsolidaci paměti v behaviorálních úlohách rozpoznání místa objektu a Morrisovo vodní bludiště. Podání psilocybinu a MDL100907 nepozměnilo NREM spánek, ale ovlivnilo bdělost, trvání REM fáze i latenci nástupu této fáze. V behaviorálních úlohách se bohužel neukázal žádný vliv látek ani spánkové deprivace na konsolidaci paměti.

Klíčová slova: paměť, spánek, konsolidace, 5-HT receptory, psychedelics

Abstract

This thesis is concerned with the serotonin system and its influence on sleep and memory consolidation. Psilocybin, a neuroplastic serotonergic psychedelic, has recently been investigated mainly for its therapeutic potential. Sleep changes associated with administration of the nonselective serotonin receptor agonist psilocybin and the selective 5-HT_{2A} receptor antagonist MDL100907, or their combination, were monitored using a biotelemetry device 24 hours after their administration in two groups, with and without sleep deprivation. We further investigated how sleep manipulation and occupancy of these receptors affects sleep parameters and whether deprivation or modulation of the receptors affects memory consolidation in behavioral tasks of object place recognition and Morris water maze. Administration of psilocybin and MDL100907 did not alter NREM sleep but did affect wakefulness, REM phase duration, and onset latency of this phase. Unfortunately, behavioral tasks showed no effect of substances or sleep deprivation on memory consolidation.

Keywords: memory, sleep, consolidation, 5-HT receptors, psychedelics

Seznam zkratek

5-HT	5-hydroxytryptamin
5-Meo-DMT	5-Methoxy-N,N-dimethyltryptamin
AMPA	<i>α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid</i>
CaMK II	kalmodulin-dependentní protein-kináza II
DMT	N,N-dimethyltryptamin
DOI	2,5-dimethoxy-4-jod-amfetamin
DOM	2,5-dimethoxy-4-metoxamfetamin
GABA	Kyselina gama-amino-máselná
EEG	elektroencefalograf, elektroencefalogram
EKG	elektrokardiogram
EMG	elektromyograf, elektromyogram
EOG	elektrookulograf, elektrookulogram
IEG	<i>immediate early genes</i>
LTP	<i>long-term potentiation</i>
LSD	diethylamid kyseliny lysergové
MAOI	inhibitor monoaminoxidázy
MWM	<i>Morris water maze</i>
NMDA	<i>N-methyl-D-aspartate</i>
NREM	<i>non-rapid eye movement sleep</i>
OCD	<i>obsedantně-kompulzivní porucha</i>
OPR	<i>object place recognition</i>
PGO	ponto-genikulo-okcipitální
SSRI	selektivní inhibitor zpětného vychytávání serotoninu
REM	<i>rapid eye movement sleep</i>
SWA	<i>slow wave activity</i>
SWR	<i>sharp-wave ripples</i>
SWS	<i>slow wave sleep</i>

Obsah

1 Úvod	5
Teoretická část.....	6
2 Spánek a spánková architektura	6
2.1 Spánek hlodavců	7
2.2 Elektroencefalografie	9
2.3 Paměť a její konsolidace	9
2.3.1 Rozdělení paměti.....	10
2.3.2 Anatomie paměti	11
2.3.3 Úloha spánku v konsolidaci paměti	12
2.3.4 Testování konsolidace paměti u laboratorních zvířat.....	14
2.3.5 Spánková deprivace.....	15
3 Serotonergní systém mozku	18
3.1 Efekt serotonergních psychedelik	18
3.2 Serotoninový systém a paměť	20
3.2.1 5-HT _{2A} receptory	21
3.3 Vliv spánkové deprivace na serotoninový systém	22
4 Cíle projektu	24
Praktická část.....	25
5 Materiály a metody	25
5.1 Zkoumané látky	25
5.2 Experimentální zvířata	25
5.2.1 Implantace biotelemetrických zařízení.....	25
5.3 Protokol administrace látek a manipulace spánku	27
5.4 Nahrávání a analýza EEG signálů	28
5.5 Behaviorální paměťové úlohy	31
5.5.1 Rozpoznání místa objektu	32
5.5.2 Morrisovo vodní bludiště	33
5.5.3 Statistická analýza	35
6 Výsledky	36
6.1 Efekt agonistů a antagonistů na spánkovou architekturu	36
6.1.1 Podíly jednotlivých fází spánků a bdělosti.....	36
6.1.2 Podrobná analýza jednotlivých fází spánků a bdělosti.....	37
6.2 Paměťové úlohy	41
6.2.1 OPR	41
6.2.2 MWM	42
7 Diskuze	45
7.1 EEG	45
7.2 Behaviorální paměťové úlohy	49
7.2.1 OPR	49
7.2.2 MWM	50
8 Závěr	52
9 Použitá literatura.....	53

1 Úvod

Psychedelika jsou skupinou psychoaktivních látek, která výrazně ovlivňuje kognitivní funkce, jako je například vnímání či emoce (Nichols, 2016). Řada z nich je v současné době zkoumána v preklinických a klinických studiích jako potenciální léčebný prostředek pro depresi, úzkost, OCD, léčbu závislostí (shrnuto v (Chi & Gold, 2020)) či pro svou neuroplastickou aktivitu a další pozitivní vlivy, jako je kreativita, paměť nebo celková pohoda (Froese et al., 2018; Schmid et al., 2015). Terapeutické úspěchy psychedelik tak přitahují pozornost vědců i široké veřejnosti, nabízejí nový pohled a přístup k těmto onemocněním a zdají se být slibné z hlediska terapie různých poruch, paliativní léčby a zlepšení kvality života.

Psilocybin je neselektivní agonista serotoninových receptorů a je znám pro svou schopnost dlouhodobě zmírnit příznaky depresivní poruchy (Carhart-Harris et al., 2016). Přesný mechanismus jeho antidepresivního účinku nebyl dosud zcela přesně vysvětlen. S depresivní poruchou stejně jako s některými dalšími psychiatrickými poruchami se pojí velké množství nežádoucích symptomů, které ubírají na kvalitě života, jako je třeba nespavost či horší paměť. Spánek je nezbytný pro konsolidaci paměti a optimální kognitivní funkce. Fragmentace spánku nebo změny ve spánkové architektuře mohou vést k významným kognitivním deficitům a zhoršení paměti (McCoy & Strecker, 2011). 5-HT_{2A} receptory, na které, mimo jiné, psilocybin působí, hrají důležitou roli v mnoha fyziologických procesech, včetně regulace nálady, vnímání a spánku. Výzkumy ukazují, že aktivace těchto receptorů psychedeliky jako psilocybin může zlepšit neuroplastické procesy v mozku, které jsou klíčové pro učení a paměť (Catlow et al., 2013).

Tato diplomová práce si klade za cíl prozkoumat konkrétní účinky psilocybinu a roli receptorů 5-HT_{2A} na spánek a následný dopad na výkon v paměťových úlohách. K pochopení těchto účinků bylo použito experimentálního přístupu zahrnujícího jak behaviorální testy, tak neurofyziologické měření spánkového režimu v animálním modelu.

Výsledky této práce mohou přispět k lepšímu pochopení role serotoninového systému ve spánkové architektuře a paměti a mohou mít širší implikace pro terapeutické využití psilocybinu a dalších psychedelických látek v léčbě kognitivních deficitů, ať už by byly součástí psychiatrických poruch či nikoliv.

Teoretická část

2 Spánek a spánková architektura

Spánek je univerzální nedílnou součástí a potřebou všech vyšších forem života včetně člověka a jeho nedostatek či absence má závažné fyziologické důsledky. Je to periodicky se opakující, cirkadiánně a homeostaticky regulovaný stav sníženého vnímání a pohyblivosti, který charakterizuje ztráta vědomí. Hraje klíčovou roli v důležitých neurobiologických procesech. Spánková deprivace způsobuje kognitivní i emoční obtíže, poruchu termoregulace či nesprávné fungování imunitního systému.

Jako architektura spánku se označuje základní strukturální uspořádání spánku zdravého jedince. Lidé spí monofázicky a rozlišují se dvě fáze – spánek bez rychlých očních pohybů (NREM) a spánek s rychlými očními pohyby (REM). NREM spánek se dělí podle nejnovější terminologie (*The American Academy of Sleep Medicine* z roku 2007) na stádia N1, N2 a N3 (ve starší terminologii A. Rechtschaffen a A. Kales z roku 1968 se navíc rozlišuje stádium 4, to je ale současně sloučeno se stádiem 3), která se liší variací mozkových vln a představují relativní hloubku spánku. Fáze spánku se liší svými charakteristickými rysy – variací elektrických oscilací znázorňujících aktivitu mozku, která je reprezentována jako kolísání napětí v důsledku proudění iontů v neuronech mozku. Oscilace mozkové aktivity jsou zobrazitelné pomocí elektroencefalografu (EEG), dále se fáze spánku dají rozeznat podle svalového tonu zobrazitelného pomocí elektromyografu (EMG), pak očních pohybů pomocí elektrookulografu (EOG), tělesnou teplotou, frekvencí dýchání a srdečního tepu, nebo například vyšším či nižším výskytem některých neurotransmiterů.

Klasifikace spánku lidí (stejně jako hlodavců) je možná díky rozlišení fází podle výkonu EMG a EEG v jednotlivých frekvenčních pásmech. Úvodní fází spánku je NREM stádium N1, ze které se lze snadno probudit. Alfa vlny (8–12 Hz) typické pro bdělost se pomalu přeměňují na vlny smíšených frekvencí. Spánek se pak prohlubuje přes stádium N2 s nižší reaktivitou na okolní podněty a výskytem spánkových vřetének a K-komplexů, až ke stádiu N3 (a dříve 4), které se označuje jako spánek pomalých vln (SWS) s nízkou frekvencí a vysokou amplitudou. EEG měření během tohoto stádia ukazují aktivitu vln delta (0,5-4 Hz). NREM fáze se tedy obecně vyznačuje hlavně synchronními vlnami EEG, nízkým svalovým tonem a minimální psychickou aktivitou. Poté spánek pokračuje znovu přes lehčí stádia NREM k REM spánku.

REM spánek (či také paradoxní spánek – EEG vlny jsou velmi podobné bdělosti) je charakterizovaný desynchronními vlnami (velký výskyt theta vln (4-8 Hz), pomalé alfa vlny a ponto-genikulo-okcipitální (PGO) vlny), svaly jsou atonické či se objevují záškuby, typicky se vyskytuje snění a epizody rychlých pohybů očí. Dále je charakteristický aktivací různých struktur mozku, změnami krevního tlaku či frekvence dechu a srdečního tepu. (Carskadon & Dement, 2011; Dement & Kleitman, 1957; Diekelmann & Born, 2010; Stenberg, 2007). REM spánek se dá rozdělit na takzvanou tonickou epizodu bez rychlých pohybů očí a fázi s rychlými pohyby očí a svalovými záškuby (Simor et al., 2020). Bdělý stav je charakteristický vyšší a poměrně proměnlivou aktivitou EMG a střední aktivitou EEG hlavně v pásmech beta (15-30 Hz) a gama (30-100 Hz) (Gilmour et al., 2010). Klidová bdělost disponuje pak spíše vlnami alfa (8-13 Hz) a je tranzitním stavem mezi bdělostí a lehkým spánkem, ale u potkanů se tento signál neobjevuje a je tedy těžko rozeznatelná klidová bdělost od začátku lehkého spánku (Rayan et al., 2022).

Celý proces se cyklicky opakuje, ale doba trvání jednotlivých fází se zpravidla mění. Na začátku spánku se vyskytuje více NREM fáze a SWS, zatímco v druhé polovině převládá REM spánek. Perioda střídání obou fází trvá přibližně 90 min. Nepravidelný cyklus nebo absence spánkových fází jsou spojovány s poruchami spánku (Carskadon & Dement, 2011; Diekelmann & Born, 2010).

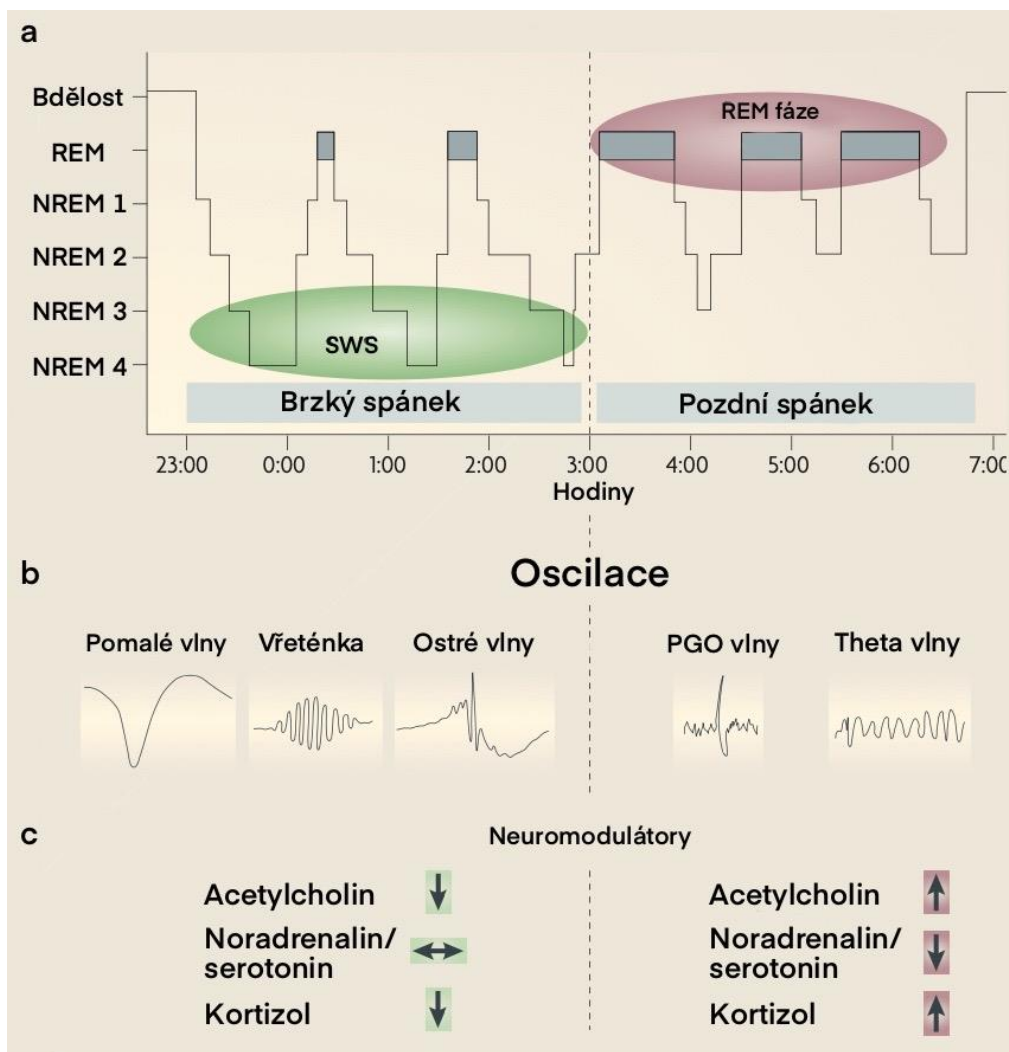
2.1 Spánek hlodavců

Potkani i ostatní hlodavci jsou běžnými zvířecími modely ve výzkumu spánku. Na rozdíl od lidí jsou potkani nokturální živočichové (mají aktivní fázi v noci) a spí polyfázicky – mají spánek rozdělený na více dílů napříč dnem i nocí, větší část však prospí přes den. Ukázalo se, že mají všechny fáze spánku pozorované u lidí (Timo-Iaria et al., 1970). Jejich jednotlivé spánkové fáze i cyklus NREM-REM jsou ale mnohem kratší – trvají 10 min ve srovnání s 60-120 min u člověka (Lacroix & Kanbi, 2018). Většina studií však nerozlišuje mezi různými substádií NREM fáze.

U lidí je měřeným parametrem délka a počet spánkových cyklů, které zahrnují dobu od epizody REM do další nadcházející – cyklus REMS-REMS. U potkanů často nedochází

k dokončení celého cyklu a po upadnutí do spánku s pomalými vlnami může dojít k probuzení bez příchodu fáze REM. Důležitým parametrem v analýze polyfázického spánku potkanů jsou tedy jednotlivé epizody fází od začátku do konce, jejich doba trvání a jejich počet během měřeného úseku (Simasko & Mukherjee, 2009).

Střídání jednotlivých fází, charakteristické elektrické oscilace mozku nebo výskyt neurotransmitterů a hormonů je znázorněno na *Obrázku 1* (Diekelmann & Born, 2010).



Obrázek 1 (a) Hypnogram zobrazující fáze spánku, (b) charakteristické elektrické oscilace pro NREM i REM fázi spánku, (c) změna uvolňování neurotransmitterů a hormonů v jednotlivých fázích (převzato z (Diekelmann & Born, 2010)).

2.2 Elektroencefalografie

Elektroencefalografie (EEG) je jednou z nejdůležitějších vyšetřovacích či výzkumných neurofyziologických metod. V případě lidského probanda je většinou neinvazivní, elektrody jsou položeny na povrch hlavy. V animálních modelech je nejčastěji využívána intrakraniální elektroencefalografie – elektrody jsou zavedeny na povrch mozku, kde snímají elektrické potenciály vzniklé jeho aktivitou. Vlnová pásma aktivity mozku již byla zmíněna v kapitolách výše, jelikož definují jednotlivé fáze spánku a bdělost.

Počet svodných kanálů používaných při intrakraniálním EEG nahrávání během studií spánku v animálních modelech se může lišit v závislosti na konkrétních cílech výzkumu. EEG záznamy mohou zahrnovat celou řadu kanálů, od jednokanálového nastavení EEG, u kterého se dají účinně klasifikovat spánková stádia napříč různými druhy pro jednoduché sledování aktivity mozku (Eldele et al., 2021), až po rozsáhlejší konfigurace s více kanály, které jsou nepostradatelné při studiích lokalizace zdroje aktivity v mozku. Polysomnografické systémy tradičně vyžadují tři kanály EEG spolu s kanálem EMG (a u lidí většinou i EOG (Anas Imtiaz & Rodriguez-Villegas, 2014)).

Použití intrakraniálního nahrávání EEG u zvířat během spánku navíc přispělo k pochopení vzorců nervové aktivity, jako jsou spánková vřetena, což jsou výboje kvazirytmické elektrické aktivity ve specifických frekvenčních pásmech (Ventouras et al., 2010).

2.3 Paměť a její konsolidace

Učení se dá definovat jako změna chování, která je výsledkem zkušeností. Zkušenosti, které vznikají v interakci s prostředím, vedou ke změnám a utváření chování. Paměť pak jsou komplexní procesy kódování naučených informací, jejich ukládání, zachování a možnost vybavení.

R. C. Atkinson a R. M. Shiffrin v roce 1968 navrhli model více úložišť (nebo také modální model paměti), který popisuje více složek paměťového systému – především krátkodobého úložiště, které zpracovává přijaté smyslové informace a propojí je s již uloženými, staršími informacemi z úložiště dlouhodobého, a mozek s nimi může dále pracovat, propojovat je či je rozvíjet, porozumět jim, uvažovat či se učit (Atkinson & Shiffrin, 1968).

2.3.1 Rozdělení paměti

Podle délky trvání se dá paměť rozdělit na senzoryckou, krátkodobou nebo dlouhodobou. Senzorická paměť umožní uchovat informace ze smyslů (trvajících od stovek milisekund do pár vteřin) vnímajících svět okolo nás pro další zpracování. Krátkodobá neboli pracovní paměť je uchovávání nových informací, které vyžadují pozornost, má omezenou kapacitu a umožňuje s informacemi pracovat, zatímco dlouhodobá paměť uchovává informace mnohdy trvale.

Krátkodobá paměť se dá podle A. D. Baddeleyho a G. Hitcheho v publikaci z roku 1974 rozdělit na centrální exekutivu, fonologickou smyčku a vizuálně-prostorový náčrtník (Baddeley & Hitch, 1974). Později A. D. Baddeley přidal čtvrtý subsystém, epizodický buffer, který kombinuje informace ze tří již zmíněných subsystémů ve formě časové reprezentace (Baddeley, 2000).

Dlouhodobá paměť se dělí na deklarativní (explicitní, vědomě přístupná) a nedeklarativní (implicitní, nevědomě přístupná) (Graf & Schacter, 1985). Deklarativní paměť zahrnuje fakta (sémantická paměť), místa a události (epizodická paměť) – toto rozdělení prvně publikoval E. Tulving (Tulving & Donaldson, 1972); nedeklarativní paměť se pak dá rozdělit na procedurální paměť (dovednosti a návyky), asociativní učení (klasické a operantní podmiňování), či neasociativní učení (habituaci a senzitivizaci) (Kandel, 1976); a priming (Hamann & Squire, 1997). Vše je podrobně shrnuto v těchto přehledech – (Camina & Güell, 2017; Frankland & Bontempi, 2005; Squire, 2004). Paměťové systémy fungují nezávisle a paralelně (Packard & McGaugh, 1996).

Jednotkou paměti jsou paměťové stopy, neboli engramy – tento termín zavedl v roce 1904 Richard Semon (Semon, 1921). Termín konsolidace poprvé použili Müller a Pilzecker v roce 1900 jako popis stabilizace dříve labilních paměťových stop, které jsou ze začátku stále náchylné k narušení (Lechner et al., 1999). Je to neurální reorganizace na synaptické i systémové úrovni, zahrnující expresi genů, syntézu proteinů, restrukturalizaci a genezi neurálních výběžků a tak změny synaptických spojení, a celkovou přeměnu různých oblastí mozku účastnících se paměťových procesů. Synaptická konsolidace nastává během prvních pár hodin po učení a definuje ji především stabilizace synaptické konektivity. Systémová konsolidace nastává později a zajišťuje především včlenění nové informace do již existující sítě starších informací v mozku (Bailey et al., 1996; Dudai, 2004).

2.3.2 Anatomie paměti

Že existuje několik anatomicky odlišných paměťových systémů se podařilo zjistit zkoumáním určitých poškození mozku, které vedly k specifickým paměťovým deficitům. Když bychom se tedy na paměť podívali z anatomického hlediska, nepostradatelnou součástí paměťového systému je hipokampus, jak se ukázalo již na případě velmi známého pacienta Henryho Molaisona, kterému byla kvůli epilepsii odstraněna část mediálního temporálního laloku – byly mu z obou stran odebrány přibližně dvě třetiny anteriorního hipokampu, byla poškozena amygdala i parahipokampální oblasti. Ztráta těchto částí mozku zapříčinila anterográdní amnézii – pacient si nemohl zapamatovat nové informace a utvořit tak epizodickou či sémantickou paměť. Mohl si ale zapamatovat nové vizuomotorické dovednosti nebo byl schopen percepčního učení učení (Corkin, 2002), což spadá do nedeklerativní paměti, která musí být tím pádem lokalizovaná v jiných částech mozku. Z toho vědcům vyplynulo, že je hipokampus nepostradatelnou součástí správného fungování paměti (Scoville & Milner, 1957), což bylo pak znovu potvrzeno (Bayley & Squire, 2005). Tyto objevené funkce hipokampu přispěly k pochopení systémové konsolidace, jako transferu informace z dočasného úložiště do obsáhlé korové sítě.

Se správným fungováním epizodické paměti úzce souvisejí i další části mozku, kromě hipokampu to je například kůra v blízkosti hipokampu (entorhinální, parahipokampální a perirhinální kůra), abkorové a podkorové struktury v mediálním temporálním laloku (Dickerson & Eichenbaum, 2010; Suzuki & Amara, 1994). Hipokampus je zodpovědný za formování a vybavování vzpomínek deklarativní paměti (N. Cohen & Squire, 1980; Wiltgen et al., 2010). Asociační oblasti neokortexu vysílají projekce sbíhající se do parahipokampálních korových oblastí, a odtud do jednotlivých částí hipokampu (gyrus dentatus, CA3 a CA1 oblast) (Amaral & Witter, 1989; Suzuki, 1996). Jednotlivé podoblasti hipokampu jsou vnitřně propojeny několika jednosměrnými dráhami, které začínají gyrem dentatem a pokračují přes CA3, pak přes Schafferovy kolaterály do CA1 a následně do subikula (Amaral & Witter, 1989). Kortikální výstupy hipokampálního zpracování vznikající v CA1 a subikulu zahrnují zpětnovazebné spojení zpět do parahipokampální oblasti, které projikují zpět do neokortikálních asociačních oblastí, z nichž pocházejí vstupy do mediálního temporálního laloku (Eichenbaum, 2000; Suzuki & Amara, 1994).

Informace zpracovávané ve třech výše zmíněných kůrách putují do hipokampu, kde vznikají nové vzpomínky a odkud je lze později vyvolat a vybavit si je (Delatour & Witter,

2002; Eichenbaum, 2000). Vybavování epizodické paměti zahrnuje prostorový a časový kontext konkrétních zážitků. Potkani s poškozeným hipokampem nedokáží účinně kombinovat informace "co, kdy a kde" v testu paměti (Ergorul & Eichenbaum, 2004). Neokortikální vstupy týkající se vlastností objektů – informace "co" – se sbíhají v perirhinální kůře a laterální entorhinální oblasti, zatímco podrobnosti poloze objektů – informace "kde" – se sbíhají v perirhinální kůře a mediální entorhinální oblasti (Eichenbaum et al., 2007).

Entorhinální kůra je na rozhraní mezi hipokampem a neokortexem, a proto je spojena s distribucí informací do hipokampu, ale také z něj (Steffenach et al., 2005). Povrchová vrstva II entorhinální kůry vystupuje směrem ke gyru dentatu a oblasti CA3 hipokampu, vrstva III vystupuje především směrem k oblasti CA1 hipokampu a subikulu (Kloosterman et al., 2004). Tyto vrstvy přijímají vstupní signály z dalších korových oblastí, zejména z asociační kůry, prefrontální kůry, perirhinální kůry a parahipokampálního gyru (Burwell, 2000; Suzuki & Amara, 1994).

Perirhinální kůra má úlohu při vizuálním rozpoznávání objektů, zatímco parahipokampální kůra se podílí na vnímání prostředí (Kesner et al., 2001). Studie funkční magnetické rezonance ukázaly, že parahipokampální kůra je výrazně aktivní, když lidé pozorují například krajiny nebo místnosti (Aguirre et al., 1996).

Díky používání pojmů a faktů uložených v sémantické paměti můžeme přemýšlet, plánovat, či uvažovat. Pochopení a také porozumění jazyku probíhá především ve spánkovém laloku a spodní části temenního laloku (J. R. Binder & Desai, 2011). Frontální laloky hrají důležitou roli v exekutivní kontrole (Duncan & Owen, 2000). Vizuálně-prostorový náčrtník nejspíše zahrnuje několik oblastí, především v pravé mozkové hemisféře. Podle klinických studií lézí se fonologická smyčka nachází v levé mozkové hemisféře. Díky neuroradiologickým studiím se můžeme domnívat, že jsou spojeny především s Brodmannovými oblastmi 40 a 44 (Baddeley, 2000).

2.3.3 Úloha spánku v konsolidaci paměti

Spánek je nutný jak pro konsolidaci deklarativní paměti (Fowler et al., 1973; J. G. Jenkins & Dallenbach, 1924; Yaroush et al., 1971), tak té procedurální (Smith, 1995). Konsolidace paměti je nezbytným krokem ve formování paměti, která zahrnuje stabilizaci engramu po jeho

získání, čímž se stává odolnější vůči interferencím. Mezi nejvýznamnější objevy patří práce vědce D. Hebba, který pracoval s hypotézou dvojité stopy (dual-trace), podle které nervová aktivita kódování přetrvává ve formě ozvěnové či dozvukové aktivity v nervových sítích krátkodobé paměti a vytváří plastické strukturální a metabolické změny neuronů, které zapříčiní přesun informace do dlouhodobého úložiště (Hebb, 1949). Plastické změny pak byly několikrát experimentálně dokázány (Agranoff & Klinger, 1964; H. Cohen & Barondes, 1966; Davis et al., 1984; Flexner et al., 1963).

Konsolidace paměti probíhá prostřednictvím dvou hlavních procesů: synaptické konsolidace, k níž dochází rychle po učení pomocí metabolických změn zahrnujících proteosyntézu. Ta je jednoduše zvrátitelná přibližně do 6 hodin po učení, pak už se zásahy do proteosyntézy synaptická konsolidace ovlivnit nedá (Muellbacher et al., 2002; Shadmehr & Holcomb 1997) A dále systémové konsolidace, což je ve srovnání pomalejší proces probíhající ve spánku, který je definován reorganizací vzpomínek – transfer informací do dlouhodobého úložiště v korových oblastech mozku. Hipokampus hraje při tvorbě a konsolidaci paměti klíčovou roli (Dudai, 2004). Můžeme se domnívat, že informace je stále zakódovaná jak v hipokampu i neokortexu, kde se zvýšením komplexity a propojenosti různých korových oblastí vytvoří stabilní síť a paměť se pomalu stává na hipokampu nezávislá (McGaugh, 2000; Squire et al., 2015). Tento transfer je umožněn neuronálním přehráváním. Tato reaktivace neuronů, které byli aktivní i při učení, probíhá ve spánku (Wilson & McNaughton 1994; Bendor & Wilson 2012).

NREM spánek je obzvláště důležitý pro konsolidaci deklarativní paměti (Rasch & Born, 2013), protože právě v této fázi se paměťové dráhy reprezentací reaktivují – to je spojováno s sharp wave-ripples (SWR). V neokortexu vznikají pomalé oscilace, které koordinují SWR a synchronizují se s nimi. Předpokládá se, že aktivita pomalých vln (SWA) – jakožto marker intenzity hloubky spánku pomalých vln NREM fáze – se podílí na aktivním udržování synaptické homeostázy (Esser et al., 2007). Ukazuje tedy změny synaptické síly mezi neurony na buněčné úrovni a zajišťuje tak buněčnou homeostázu (Tononi & Cirelli, 2003, 2014). Tyto změny v síle synapsí stejně jako systémová konsolidace se dají shrnout pod termín neuroplasticita, která je stěžejní pro mnohé paměťové funkce (Marshall et al., 2006).

Plastické změny jsou pravděpodobně umožněny thalamokortikálními vřetenky, ty zajišťují mohutný vtok vápenatých kationtů do dendritů neokortikálních pyramidových buněk a některé kinázy (například kalmodulin-dependentní protein-kináza II (CaMK II)) umožní expresi genů primární odpovědi (immediate early genes, IEG), AMPA (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid) receptorů a také udržení synaptických dlouhodobých potenciálů – LTP (long-term potentiation) (Born et al., 2006). U nedeklarativní paměti se pak přehrávání odehrává během REM spánku (Peigneux et al. 2003; Plihal & Born, 1997; Gais et al., 2000; Korman et al., 2007).

Systémové i synaptické konsolidaci včetně LTP a dalším mechanismům jsem se blíže věnovala ve své bakalářské práci.

2.3.4 Testování konsolidace paměti u laboratorních zvířat

Behaviorální testy se využívají ke studiu vztahů mezi mozkiem a chováním za kontrolovaných podmínek s konečným cílem získat vzhled do těchto vztahů a umožnit jejich předpovědi u člověka, nebo u stejného druhu za jiných podmínek, než za jakých byla studie provedena, či u jiného než studovaného druhu. Při výběru testů je důležité, aby byla v případě preklinického výzkumu zachována analogie k člověku a praktické provedení. Behaviorální testy musí být především replikovatelné, validní, spolehlivé, a aby byly zachovány etické aspekty 3R (Russell & Burch, 1959).

Právě z kognitivní teorie vychází možnost modelovat deklarativní paměť na zvířatech – „Potkani (stejně jako člověk) mají v mozku „kognitivní mapu“, komplexní reprezentaci (znalost) prostředí. Takovou znalost lze považovat za projev deklarativní paměti.“ (Tolman 1948). V roce 1971 O’Keefe a Dostrovsky zjistili u potkanů, že hipokampus kóduje prostor a objevili buňky místa (O’Keefe & Dostrovsky, 1971). Později objevili, že hipokampus funguje jako kognitivní mapa (O’Keefe & Nadel, 1978).

Prostorové učení je základní funkcí u hlodavců i lidí a u obou druhů se dá hodnotit analogickým způsobem. U hlodavců se testování provádí pomocí různých klasických i vodních bludišť, ze kterých lze poměrně snadno hodnotit prostorovou navigaci a orientaci. Testovat se dá jak pracovní paměť, tak ta dlouhodobá, včetně všech svých složek – získávání, konsolidace

a vybavení paměti. Experimenty zkoumající pracovní paměť využívají kruhové bludiště s rameny (radial arm maze), nejčastěji s osmi rameny (Olton and Samuelson 1976).

Testování prostorové navigace vyžaduje senzitivní prostorová paradigmat, jako je Morrisovo vodní bludiště (MWM) (Morris, 1981; Stuchlik et al., 2007). Další prostorovou úlohou je aktivní vyhýbání se místu v kolotočovém bludišti (dříve známé také jako aktivní alotické vyhýbání se místu (AAPA)) (Cimadevilla et al., 2000; Stuchlik et al., 2007). Při tomto testu se zvířata vloží do pomalu rotující arény a mají se vyhnout sektoru umístěnému ve stabilní poloze místnosti. Potkani vyhýbající se místům si tedy pamatují a rozeznávají referenční rámce arény a místnosti (Fenton et al. 1998).

Hipokampus a entorhinální kůra jsou esenciální pro prostorovou navigaci, která reflektuje explicitní učení a dlouhodobou a epizodickou paměť, jak už bylo zmíněno výše. Striatum a související struktury jsou pak důležité oblasti pro egocentrickou navigaci, která reflektuje implicitní nebo procedurální paměť, jak je přehledně shrnuto v publikaci „Tests for Learning and Memory in Rodent Regulatory Studies“ (Vorhees & Williams, 2024).

Pokusy na zvířatech ukázaly, že chování, které nevede k odměně nebo trestu, je velmi obtížně pochopitelné (Phelps & LeDoux, 2005).

2.3.5 Spánková deprivace

Spánková deprivace je stav charakterizovaný nedostatečným množstvím nebo kvalitou spánku, což vede k různým fyziologickým a psychologickým důsledkům. Zkoumáním spánkové deprivace máme možnost zjistit, jaké všechny funkce zdravý spánek zajišťuje. Spánku může být zamezeno úplně, částečně (přerušovaný spánek často cílí na REM fázi spánku), či může být pouze výrazně zhoršena jeho kvalita. Úplná absence spánku je však téměř neproveditelná, jelikož se vždy mohou vyskytnout stavy mikrospánku trvající až několik vteřin, které se při dlouhé deprivaci mohou objevit (Colavito et al., 2013; Friedman et al., 1979).

Spánková deprivace u laboratorních zvířat může být zajištěna několika způsoby, buď samotným experimentátorem či automatizovanými procesy. Experimentátorem prováděná účinná metoda deprivace je metoda šetrného zacházení (z anglického gentle handling), která zamezí nadměrnému vniku nežádoucího stresu, který by mohl ovlivnit výsledek experimentu.

Přesto se však u zvířat může zvýšit hladina kortikosteronu, který se stresem souvisí (Meerlo et al., 2008). Při této metodě experimentátor zajišťuje jemnými manipulacemi, že je zvíře stále vzhůru, kdykoliv začne usínat. Mohou to být jemné zvuky, poklepání na klec, manipulace dotekem rukou či předmětem (Colavito et al. 2013). Mezi automatizované postupy patří mechanická zařízení, která nutí zvíře být stále v pohybu, například pohyblivý pás či rotující válec (Stefurak et al. 1977), nebo aby se vyhnulo bolestivému podnětu či pádu do vody (James & Piper, 1978; Rechtschaffen et al., 1989; Rechtschaffen & Bergmann, 1995).

Ve spánku probíhá očištění glymfatického systému mozku od metabolitů, které je při deprivaci omezené (Xie et al. 2013), a zlepšuje lokální distribuci potřebných sloučenin, jako jsou glukóza (Lundgaard et al. 2015), lipidy (Thrane et al. 2013), aminokyseliny, růstové faktory a neuromodulátory. Při omezení spánku byl u pokusných myší objeven snížený transport glukózy, zhoršená propustnost hematoencefalické bariéry a zvýšená zánětlivost způsobená cyclooxygenázou-2 (hlavní enzym, který umožňuje biosyntézu prostaglandinu z kyseliny arachidonové – shrnuto v (Simon 1999)). Propustnost hematoencefalické bariéry byla obnovena do původního stavu již po 24h regeneračním spánku (He et al., 2014). Spánková deprivace také moduluje vzorce sekrece hormonů, jako jsou hladiny tyrotropinu a kortizolu (Strassman et al., 1988). Tyto hormonální změny dále přispívají ke složité kaskádě fyziologických reakcí na spánkovou deprivaci. Dále bylo zjištěno, že spánková deprivace působí antidepresivně v relativně krátkém časovém horizontu, což naznačuje rychlou modulaci procesů souvisejících s náladou (Lopez-Rodriguez et al., 2004). Studie také demonstrovaly, že spánková deprivace může změnit kardiovaskulární funkce (Evsayekha et al., 2022; Wang et al., 2023), ovlivnit paměť a kognitivní výkonnost.

Jedním z cílů této práce je porozumět vlivu deprivace na kognitivní procesy a paměť. Výzkum ukázal, že spánková deprivace může zhoršit exekutivní funkce, morální rozhodování a sociální poznávání, a ovlivnit rozhodovací procesy (Aidman et al., 2019; Gaine et al., 2021). Spánková deprivace konsolidaci paměti oslabuje (Diekelmann & Born, 2010; Rasch & Born, 2013; Siegel, 2001).

Spánková deprivace je spojena se změnami v genové expresi, včetně metylace DNA a hydroxymethylace, které mohou ovlivnit geny synaptické plasticity (Massart et al., 2014; Lyons et al., 2020). Tato změna genové exprese může ovlivnit různé procesy, jako je biosyntéza proteinů a funkce neuronů.

Spánková deprivace je navíc spojena se změnami mozkové aktivity, jako je snížená aktivace v klidovém stavu v pásmu alfa a funkční konektivita, což může narušit normální oscilace mozku (Wu et al., 2021). Kromě vlivu na kognitivní funkce a genovou expresi byla spánková deprivace spojena se změnami vzorců hlubokého spánku a molekulárních korelátů spánkového tlaku u organismů, jako je *Drosophila* (Chowdhury et al., 2023). To poukazuje na složitý vztah mezi spánkovou deprivací a homeostatickou regulací spánku. Nedostatek spánku má vliv nejen na kognitivní procesy, ale také na duševní zdraví, což dokazuje jeho souvislost s úzkostí (Pires et al., 2016).

Spánková deprivace je komplexní jev, který ovlivňuje různé aspekty fyziologie, kognice a duševního zdraví. Nedostatečný spánek může mít dalekosáhlé důsledky na celkovou pohodu – od změn v genové expresi a kognitivních funkcích až po změny v mozkové aktivitě a hormonální regulaci. Tím zdůrazňuje kritickou roli spánku pro optimální fungování paměťových procesů.

3 Serotonergní systém mozku

Serotonergní receptorový systém je zahrnut v mnoha biologických procesech. Serotonin (5-hydroxytryptamin, 5-HT) je monoaminový neurotransmitter, který hraje důležitou roli například v kognitivních funkcích, emocích, regulaci tělesné teploty, cirkadiánní aktivitě, chuti k jídlu, bolesti a dále (Olivier, 2015). Tyto funkce jsou modulovány aktivitou 5-HT receptorů, ty jsou rozděleny do sedmi skupin, podle rozdílné struktury či lokalizace. Existuje sedm tříd serotoninových receptorů, 5-HT1A/1B/1D/1E/1F, 5-HT2A/2B/2C, 5-HT3A/3B, 5-HT4A/4B/4C/4D, 5-HT5A/5B, 5-HT6 a 5-HT7A/7B/7C/7D, kdy všechny kromě třídy 5-HT3, která zahrnuje iontové kanály, jsou receptory spřažené s G-proteiny (GPCR) (Hoyer et al., 1994; Barnes et al., 1999; Hoyer et al., 2001). Serotonin se však nevyskytuje jen v centrální nervové soustavě nebo periferní nervové soustavě, ale také v srdci nebo v zažívacím traktu, kde je jeho největší obsah v těle vůbec (Liu et al., 2021). V mozku savců je serotonin tvořen v rafeálních jádrech v retikulární formaci mozkového kmene, odsud vycházejí serotoninové neurony a svými axony se šíří napříč mozkem (Nichols et al., 2008).

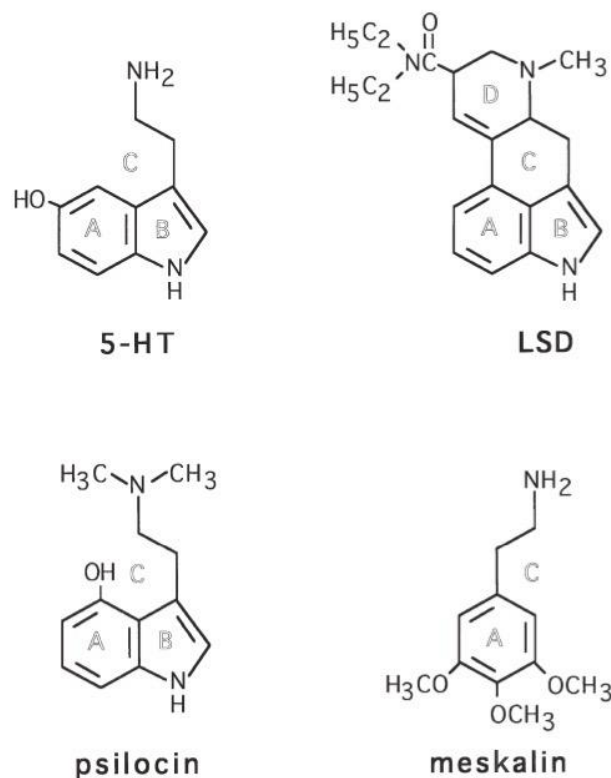
Ze serotoninových receptorů se 5-HT2A, přes který primárně působí všechna serotonergní psychedelika, podílí na afektivních funkcích (Schmitt et al., 2006; Cools et al., 2008) a také na neurobiologii některých psychiatrických poruch, jako jsou psychózy, úzkost, deprese a jejich léčba (Horacek et al., 2006; Vollenweider et al., 2010).

3.1 Efekt serotonergních psychedelik

Psychedelika jsou psychoaktivní látky, jejich podání lidem vede ke změněným stavům vědomí – dochází ke změnám ve vnímání zahrnující halucinace, iluze, snění či synestezii, změny v emocích ve škále od extáze k úzkosti, změny v kognici a senzomotorickém zpracování a vyvolání psychotických příznaků, které se podobají příznakům schizofrenie (Vollenweider et al., 1998; Hasler et al., 2004). Nejsou toxické a nevyvolávají závislost (Nichols, 2004). Co se týče fyziologických účinků, halucinogeny mají malou nebo žádnou afinitu k biologickým receptorům a cílům, které zprostředkovávají životně důležité vegetativní funkce, to potvrzuje jejich netoxicitu. Může docházet ke zvýšení krevního tlaku, tachykardii a mydriáze. V ojedinělých případech mohou nastat závratě, nevolnost, nauzea, vracení či slabost (Hasler et al., 2004).

U hlodavců akutní podání psychedelik ovlivňuje senzomotoriku, sociální chování, lokomoční aktivitu, a kognitivní funkce včetně pracovní paměti. Tento fenotyp je považovaný za zvířecí model schizofrenie (Tylš et al., 2014). Akutní administrace dále zvyšuje kognitivní flexibilitu u potkanů (ta se dá definovat jako schopnost přepínat mezi mentálními procesy pro přizpůsobení chování změnám v prostředí) (Torrado Pacheco et al., 2023).

Psychedelika se pak dají rozdělit na tři různé skupiny podle jejich chemické struktury – indolaminy, které sdílejí indolaminovou skupinu se serotoninem (např. psilocybin, psilocin a N,N-dimethyltryptamin (DMT), 5-MeO-DMT (5-Methoxy-DMT)); ergoliny, které obsahují indolovou část (např. diethylamid kyseliny lysergové (LSD)); a fenetylaminové halucinogeny s kruhovými substituenty (např. meskalin) (Aghajanian & Marek, 1999a). Některé ze sloučenin jsou zobrazené níže na *Obrázku 2*.



Obrázek 2 – Strukturní vzorce serotoninu, LSD, psilocinu a meskalinu. Pomocí písmen A, B, C, D jsou zdůrazněny společné strukturální rysy. Převzato z (Aghajanian & Marek, 1999a).

Psilocybin (O-fosforyl-4-hydroxy-N,N-dimethyltryptamin) jako zástupce klasických psychedelik a jeho aktivní defosforylovaný metabolit psilocin (4-hydroxy-N,N-dimethyltryptamin) jsou hlavní psychoaktivní indolalkylaminy obsažené v halucinogenních houbách především rodu *Psilocybe* a *Conocybe* (Hasler et al., 1997; Tylš et al., 2014). Po perorálním požití (nejběžnější způsob podání) je psilocybin v krvi, ledvinách a střevě defosforylován alkalickou fosfatázou na psilocin, který může snadno procházet hematoencefalickou bariérou (Horita & Weber, 1961).

Klasická serotonergní psychedelika sdílí se serotoninem stejné indolové jádro, což je důvod jejich vazebné podobnosti. Psilocybin působí hlavně jako neselektivní agonista receptorů 5-HT_{2A/B/C}, dále má významnou agonistickou aktivitu na receptorech 5-HT_{1A} a také na dalších typech serotoninových receptorů, například 5-HT_{1B/D/E}, 5-HT_{5A}, 5-HT₆, 5-HT₇ (Tylš et al., 2014). Právě agonismus postsynaptických receptorů 5-HT_{2A} (s příspěvkem 5-HT_{2C} a HT_{1A}) je zodpovědný za halucinogenní účinky psilocybinu a jiných psychedelik (Nichols, 2004). Tyto receptory jsou široce distribuovány v neokortexu, hipokampu, bazálních gangliích a limbickém systému, 5-HT_{1A} také v rafeálních jádrech (Barnes et al., 1999). Zdá se, že za některé účinky je sekundárně zodpovědný též aktivovaný limbický dopaminergní systém – způsobuje u lidí uvolňování dopaminu ve ventrálním striatu, což souvisí s příznaky depersonalizace a euforickými prožitky (Vollenweider et al., 1999). Účinky psilocybinu jsou u lidí inhibované antagonisty 5-HT_{2A/C} receptoru (Vollenweider et al., 1998).

3.2 Serotoninový systém a paměť

Serotonin kromě spousty fyziologických funkcí moduluje i vyšší mozkové funkce, jako je kognice nebo emoční chování (Ciranna, 2006). Vysoká hustota receptorových projekcí v hipokampu a prefrontální kůře ukazuje přímé spojení právě s kognitivními funkcemi. Serotonergní systém se v hipokampu podílí například na asociativním učení, prostorové navigaci, rozhodování a sociálních vztazích (Harvey, 2003; Charnay et al., 2010; Buzsáki et al., 2013) v prefrontální kůře na pracovní paměti, pozornosti, rozhodování a reverzním učení (Clark et al., 2004; Leiser et al., 2015). Právě hipokampus a prefrontální kůra obsahují všechny třídy serotonergních receptorů (Barnes et al., 1999; Celada et al., 2013). Deplece prekursoru serotoninu, tryptofanu, zhoršuje konsolidaci paměti (Porter et al., 2003; Riedel et al., 1999). Naopak doplnění serotoninu zvýšenou konzumací tryptofanu může kognitivní funkce zlepšit

(Jenkins et al., 2016). Bylo prokázáno, že serotonergní psychedelika včetně psilocybinu prostřednictvím receptorů 5-HT_{2A} podporují neuroplasticitu (Ly et al., 2018), což je základní mechanismus neuronální adaptace, který je například u deprese narušen (Carhart-Harris & Goodwin, 2017).

Preklinické a klinické studie naznačují, že aktivita serotonergního systému souvisí s krátkodobou a dlouhodobou pamětí a kognitivním výkonem během stárnutí (Jenkins et al., 2016). Výzkumy zdůraznily úlohu serotonergního systému v učení a paměti, zejména jeho interakce s dalšími neurotransmitterovými systémy, jako jsou cholinergní, glutamatergní, dopaminergní a GABAergní systém (Buhot et al., 2000). To podtrhuje široký vliv serotoninu na kognitivní funkce a paměťové procesy prostřednictvím složité sítě interakcí v mozku.

Co se týče spánku, byly zaznamenány účinky selektivní inhibitorů zpětného vychytávání serotoninu (SSRI), inhibitorů zpětného vychytávání serotoninu a noradrenalinu, inhibitorů monoaminoxidázy (MAOI) a tricyklických antidepresiv na REM fázi spánku – zkrácení doby trvání této fáze a zvýšení latence nástupu, a to jak po akutním, tak po chronickém užívání (Wilson & Argyropoulos, 2005). Změny NREM spánku, jako je zvýšený objem delta vln a času stráveného v SWS, byly pozorovány po delší antidepresivní léčbě sertralinem (Zhang et al., 2013), ale nebyly prokázány po krátkém užívání SSRI. Shrnutí v (Wilson & Argyropoulos, 2005).

3.2.1 5-HT_{2A} receptory

Zásadní role 5-HT_{2A} receptorů v halucinogenních účincích psychedelik byla dokázána použitím agonistů (např. LSD, 2,5-dimethoxy-4-jod-amfetamin (DOI) a 2,5-dimethoxy-4-methylamfetamin (DOM)) a antagonistů (pirenperon, ketanserin, MDL100907). Podání selektivního antagonisty 5-HT_{2A} receptoru MDL100907 před podáním psychedelika vedlo k nižší aktivitě neuronů o 19% v porovnání s kontrolní skupinou bez antagonisty (Marek & Aghajanian, 1996). Dále byl po podání ketanserinu a pirenperonu pozorován útlum halucinogenních účinků psychedelika DOM a LSD (Glennon et al., 1984).

Závažnost některých kognitivních deficitů koreluje se sníženou vazbou na receptor 5-HT_{2A} (Hasselbalch et al., 2008; Marner et al., 2012; Meltzer, 1999; Versijpt et al., 2003). Tvorba paměti je závislá na neuronální synaptické plasticitě, na níž se podílí mnoho

neurotransmitterových systémů, především ten glutamatergní. Bylo prokázáno, že agonisté 5-HT_{2A} postsynapticky aktivují pyramidové neurony ve vrstvě V. frontální kůry a neuronů v amygdale (Aghajanian & Marek, 1999b; Lambe et al., 2000; Stein et al., 2000). Jejich aktivace zvyšuje uvolňování glutamátu v hipokampu a usnadňuje synaptickou plasticitu zprostředkovanou NMDA receptory v bazolaterální amygdale.

Ve studiích zaměřených na paměťové procesy u myši bylo zjištěno, že agonista 5-HT_{2A/C} 4-bromo-3,6-dimethoxybenzocyclobuten-1-yl methylamin hydrobromid (TCB-2) usnadňuje vymizení kontextové paměti strachu, na níž se podílí hipokampus (Zhang et al., 2013). V dalších experimentech vedlo podání TCB-2 po ukázkovém sezení ke zvýšení konsolidace paměti o 24 hodin později v úloze rozpoznávání nových objektů. Tento účinek byl blokován selektivním antagonistou receptoru 5-HT_{2A}, což naznačuje zapojení tohoto specifického receptoru. Nicméně, když byl agonista podán před vzorkovacím nebo testovacím sezením, žádný účinek se neprojevil (Zhang & Stackman, 2015). Dále bylo prokázáno, že při lokálním podání agonisty do oblasti CA1 hipokampu byly jeho účinky stejné jako při systémovém podání (Zhang & Stackman, 2015). Ve studii zaměřenou na účinek psilocinu v úloze MWM se ukázalo, že psilocin zlepšil konsolidaci paměti, pokud byl podán bezprostředně po tréninkové fázi (Froese et al., 2018; Rambousek et al., 2014). Po 24 hodinách se u potkanů, kterým byl podán psilocin, paměť výrazně zlepšila oproti kontrolní skupině. Tento účinek byl závislý na dávce (byl výraznější při dávce 4 mg/kg ve srovnání s dávkou 1 mg/kg). Pokud byl psilocin podán těsně před vybavením si vzpomínky, toto vybavování se zhoršilo (Rambousek et al., 2014). Další studie ukázala, že jednorázová dávka psilocybinu zvýšila hustotu synapsí a snížila hustotu 5-HT_{2A} receptorů v hipokampu (Raval et al., 2021).

3.3 Vliv spánkové deprivace na serotoninový systém

Bylo prokázáno, že spánková deprivace má významný vliv na serotoninový systém a ovlivňuje různé aspekty serotoninové neurotransmise. Studie ukázaly, že spánková deprivace může způsobit depleci serotoninu (Asikainen et al., 1997), rychlost vypalování serotoninergních neuronů v dorzálním rafeálním jádru (Gardner et al., 1997) a funkce serotoninových receptorů (Prévoit et al., 1996). Studie ukázaly, že spánková deprivace může zvýšit aktivitu serotoninergních neuronů v hypotalamu (Senthilvelan et al., 2006). To naznačuje, že spánková deprivace může změnit aktivitu a fungování serotoninových drah v mozku.

Z neurochemického hlediska bylo zjištěno, že spánková deprivace zlepšuje fungování mozkových serotoninových drah, které vykazují zvýšenou aktivitu během bdění a sníženou aktivitu během spánku (Smeraldi et al., 1999).

Studie Heisera et al. navíc podporuje myšlenku, že antidepresivní účinky spánkové deprivace zahrnují proserotonergní mechanismy (Heiser et al., 1997). V rozporu s názorem, že nedostatek serotonergní aktivity je spojován s vyšším výskytem sebevražd, některé studie naznačují, že spánková deprivace může ve skutečnosti zvýšit aktivitu serotonergního systému (Kohyama, 2011). To zpochybňuje předchozí předpoklady o úloze serotoninu při spánkové deprivaci a zdůrazňuje složitost modulace serotoninu v reakci na poruchy spánku. Zjistilo se, že chronická částečná spánková deprivace a stres ovlivňují citlivost autoreceptorů 5-HT_{1A}, což vede ke zvýšenému uvolňování serotoninu v cílových oblastech (Roman et al., 2006).

Výzkum navíc prokázal, že serotonergní signalizace ve specifických neuronech hraje klíčovou roli v regulaci homeostázy spánku (Qian et al., 2017). To poukazuje na složité zapojení serotonergního systému do řízení cyklů spánek-bdění a naznačuje, že narušení serotoninové signalizace může mít vliv na regulaci spánku. Další studie ukázaly, že umlčení serotoninergních buněk během paradoxního spánku přispívá k udržení theta rytmu, což je klíčový regulační signál ve spánkových stavech (Kocsis et al., 2006).

Na zvířecích modelech byla spánková deprivace spojena se změnami serotonergní neuronální aktivity v dorzálním rafeálním jádru, což může vést k deficitu ve zpracování sensorických informací (Gardner et al., 1997). To by mohlo znamenat, že změny v serotoninergních neuronálních reakcích mohou být základem některých kognitivních a sensorických poruch pozorovaných během spánkové deprivace. Spánková deprivace je navíc spojena se zvýšenou aktivitou serotonergních neuronů ve specifických oblastech mozku, jako je hypotalamus, po 24 hodinách spánkové deprivace (Senthilvelan et al., 2006).

4 Cíle projektu

Cílem této práce bylo objasnit úlohu 5-HT_{2A} receptorů ve spánkové architektuře, při konsolidaci paměti a v interakci spánkového cyklu a procesu konsolidace. U zvířat, která byla buď ponechána nerušeně spát nebo byla spánkově deprivovaná, jsme sledovali vliv podávání neselektivního agonisty serotoninových receptorů psilocybinu a/nebo selektivního antagonisty 5-HT_{2A} receptoru MDL100907 na:

- 1) Architekturu EEG záznamu odlišných spánkových fází během a po manipulaci se spánkem.
- 2) Konsolidaci paměti a výkon v behaviorálních paměťových úlohách závislých na hipokampu.

Psilocybin není selektivní pouze vůči 5-HT_{2A/B/C}, má významnou agonistickou aktivitu i na receptorech 5-HT_{1A} a také na 5-HT_{1B/D/E}, 5-HT_{5A}, 5-HT₆, 5-HT₇ (Tylš et al., 2014). Součástí práce bude objasnit, zda jsou účinky psilocybinu závislé na stimulaci receptorů 5-HT_{2A} a to současným podáním selektivního antagonisty 5-HT_{2A} receptoru MDL100907. Protože agonisté 5-HT_{2A} obvykle zvyšují vigilitu zvířat, pro kontrolu role spánku na konsolidaci paměti bude placebo (podání vehikula) i ostatní skupiny látek studovány také se spánkovou deprivací.

Pochopení role 5-HT_{2A} receptorů v tomto experimentálním schématu by mohlo být zvláště zajímavé v souvislosti s pochopením neurobiologie kognitivních deficitů u mnoha psychiatrických poruch, jako je schizofrenie, deprese a Alzheimerova choroba, a mohlo by to vést k formulaci nových terapeutických strategií pro zlepšení kognitivních funkcí u těchto poruch.

Hypotézy:

- 1) Psilocybin zkrátí dobu spánku zvířat během dne.
- 2) Podání psilocybinu prodlouží latenci REM spánku a zmenší podíl spánku REM.
- 3) Spánková deprivace oslabí konsolidaci paměti.
- 4) Psilocybin zlepší konsolidaci paměti v MWM a OPR u spánkově deprivovaných zvířat ve srovnání s nedeprivovanými zvířaty.
- 5) Antagonista 5-HT_{2A} MDL100907 bude oslabovat konsolidaci paměti.

Praktická část

5 Materiály a metody

5.1 Zkoumané látky

Psilocybin 5 mg/kg byl rozpuštěný ve fyziologickém roztoku (0,9% NaCl) na koncentraci 2,5 mg/ml. Všechny injekce byly podány subkutánně (s.c.) v dávce 2 ml/kg hmotnosti zvířete. Každý den byly připravovány čerstvé roztoky, které byly skladovány při teplotě 4 °C a chráněny před světlem. Antagonista receptoru 5-HT_{2A} MDL100907 byl podáván v dávce 0,5 mg/kg hmotnosti rozpuštěný ve fyziologickém roztoku (0,9% NaCl). Kontrolní vehikulum (fyziologický roztok) byl také podáván subkutánně.

5.2 Experimentální zvířata

Všechny experimentální postupy byly v souladu s českým zákonem na ochranu zvířat proti týrání, příslušnou směrnicí Evropské unie (2010/63/ES) a pokyny NIH. Experimenty byly prováděny na dospělých samcích potkanů Long Evans (Charles River, Německo), kteří na počátku experimentu vážili 280-350 g. Zvířata byla umístěna v párech ve standartních průhledných plastových klecích, v místnosti s konstantní teplotou 25° s cyklem 12:12 h světlo/tma s rozsvícením v 6:00. Voda a potrava byly po celou dobu pokusů zvířatům k dispozici ad libitum.

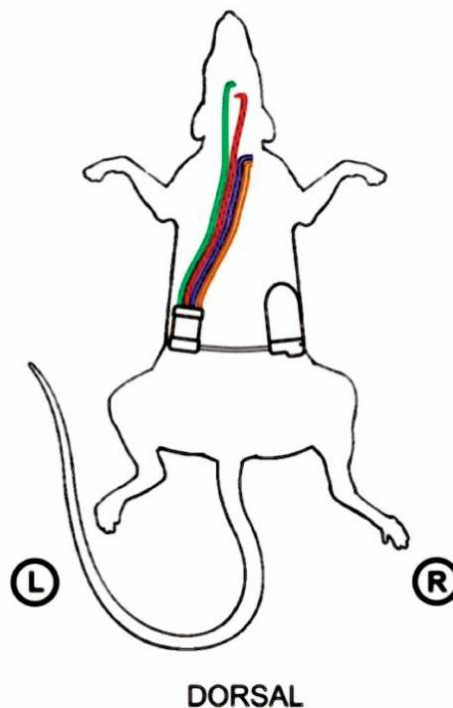
5.2.1 Implantace biotelemetrických zařízení

Klasické metody, kdy je zvíře pro záznam různých fyziologických parametrů znehybněno či jsou implantované elektrody připojeny kabelem k zesilovači nad pokusnou arénou/kleci, nemusejí přinášet objektivní výstupy kvůli vlivu stresu, výstupní hodnoty mohou být zkreslené. Dalšími obtížemi může být odpojování EEG kabelů od hlavy pokusného zvířete, žvýkání kabelů zvířetem nebo špatný poměr signálu k šumu, zejména při současném sledování více zvířat (Medlej et al., 2019; Bertram et al., 1997). Biotelemetrie je stále používanější metoda pro měření nejrůznějších fyziologických parametrů, jako je EEG, EMG, EOG a elektrokardiogram (EKG), tělesná teplota, aktivita a dále, protože zachycuje chování a fyziologické funkce zvířete v normálním, nerušeném stavu – zvíře není nikterak omezováno

v pohybu kabely a není nadměrně stresováno znehybněním. Je tak možné nahrávat delší periody experimentu kontinuálně. Může se tak zamezit například nadměrnému používání pokusných zvířat, či předčasnému ukončení nákladného experimentu kvůli poranění zvířete. Mezi nevýhody biotelemetrických implantátů pak můžeme zařadit vyšší náročnost chirurgických implantací (Kramer et al., 2003).

Zvířata byla týden před operací handlována, aby byla zvyklá na experimentátory. V den operace byla anestezizována inhalací isofluranu (2,5-3 %) a hlava zvířete byla upevněna do stereotaktického zařízení pro stabilizaci lebky a správné vyměření umístění snímacích elektrod. Poté jim bylo chirurgicky implantováno telemetrické zařízení DSI 4ET (*Data Sciences International, DSI, USA*), na konci drátů (vyjma jednoho pro snímání EMG) byly připájeny pozlacené piny.

Na hlavě, krku i hřbetě zvířete byly provedeny 3 podélné řezy a implantát byl umístěn subkutánně po obou bocích zvířete, na jedné straně baterie a na straně druhé samotné zařízení. Dráty z implantátu byly protlačeny podkožním prostorem na zadní straně krku, aby mohly být zavedeny k vybraným oblastem mozku a EMG elektroda ke krčním svalům (*Obrázek 3*).



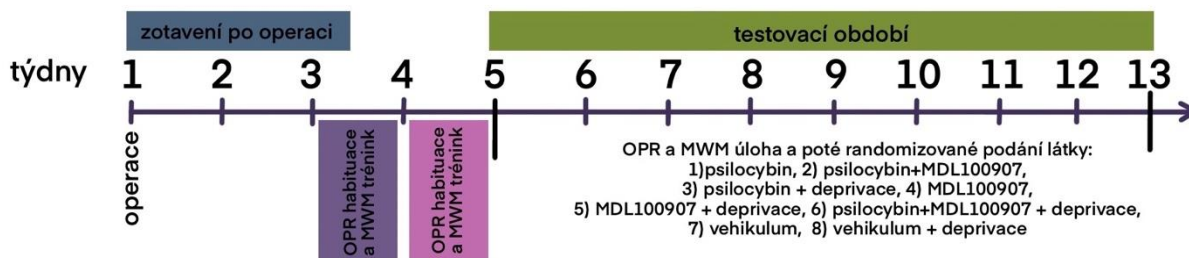
Obrázek 3 – Schéma umístění implantátu

Po odhrnutí kůže na lebce a očištění lebky od tkáně bylo do lebky vyvrtáno celkem 10 otvorů. Tři z nich přesně odpovídaly umístění oblastí našeho zájmu – frontální asociační, primární somatosenzorické a primární zrakové kůry (Bregma [A=0/L=0], F1 - [A= +4,8 mm/L= -1,3 mm], P1 - [A= -3,0 mm/ L= +3,9 mm], V1 - [A= -5,6 mm/L= +3,9 mm]). Další čtyři byly vyvrtány nad mozečkem a další tři v jiných oblastech pro umístění šroubů z nerezové oceli. Tři snímací elektrody byly zavedeny do stereotakticky vyměřených vyvrtaných otvorů. Čtyři referenční elektrody pro každý z kanálů byly umístěny nad mozečkem. Pro zachování impedance byly do zbylých otvorů připevněny tři šrouby z nerezové oceli. Celá plocha s umístěnými elektrodami a šrouby byla pokryta vrstvou dentálního cementu. K zadním krčním svalům byl přišit obnažený drát EMG elektrody pro sledování svalové aktivity zvířete. Nakonec byla kůže umístěna zpět na místo a sešita. Rekonvalescence po chirurgickém zákroku trvala 2 týdny. Během prvního týdne po operaci dostávala zvířata léky proti bolesti (meloxicam 1 mg/kg 1x denně) a antibiotika (enrofloxacin 10 mg/kg 1x denně).

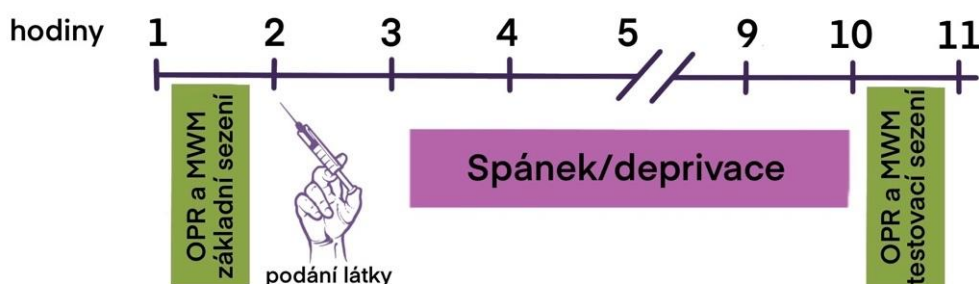
5.3 Protokol administrace látek a manipulace spánku

Ve studii byl použit crossover design – každé zvíře podstoupí všechny možné kombinace podání vehikula, psilocybinu, antagonisty MDL100907 či jejich kombinaci, a spánkovou deprivaci nebo byla ponechána volně spát (*Obrázek 4*). Podání látek bylo seřazeno v pseudorandomizovaném pořadí – vždy tak, aby se střídaly spánkové manipulace a podání látky bylo randomizované. Zvířata byla 7 dní před pokusem handlována, aby byla navyklá na experimentátory. Velikost vzorku byla 15 zvířat (N=15).

Zvířata byla po operační rekonvalescenci habituována v openfield aréně a trénována v Morrisově vodním bludišti. Každé zvíře podstoupilo základní sezení mezi 7-9 hodinou, sestávající z MWM a OPR na konci aktivní fáze zvířat. Po základním sezení byla zajištěna aplikace látky či vehikula a zvířata byla spánkově deprivována či byla ponechána volně spát. Zvířata byla po 8 h spánku či deprivace (mezi 17-19 hod.) znovu testována, zda se jim paměť vybaví v testovacím sezení (*Obrázek 5*).



Obrázek 4 – Harmonogram celého experimentu. Během prvního týdne po OPR habituaci a MWM tréninku byli potkani testováni s pseudonáhodným pořadím jednotlivých látek s kombinací spánkové manipulace. Vytvořeno v ProCreate.



Obrázek 5 – Harmonogram jednoho cyklu testování. Kromě zaznamenávání EEG a EMG během 8 h mezi základním a testovacím sezením byla zvířata monitorována ještě po 13 h během noci. Vytvořeno v ProCreate.

5.4 Nahrávání a analýza EEG signálů

Pomocí telemetrického zařízení DSI 4ET implantovaného podkožně byla po dobu 21 hodin po podání látky nepřetržitě zaznamenávána aktivita, především EEG a EMG. Stavy bdělosti (bdělost, NREM a REM spánek) byly zaznamenávány pomocí softwaru Neuroscore 3.0 (DSI, St-Paul, MN, USA).

Implantát je ze dvou fyzicky i elektricky propojených částí, jak lze vidět na *Obrázku 6*. Skládá se ze snímacího modulu (vlevo), což je část s barevně odlišenými dráty, kde je senzor snímající teplotu a bipotenciální vodiče, které snímají čtyři nahrávané fyziologické signály; a z telemetrického modulu (vpravo), který obsahuje baterii a obvody pro přenos dat. Fyziologická data jsou snímána snímacím modulem a přenesena přes 4ET telemetrický modul radiofrekvenčními signály do přijímací desky, na které byla uložena klec s potkany, a která je propojená s počítačem a počítačovým programem Dataquest A.R.T. (Data Sciences International, DSI, USA). Přijímací deska s klecí lze vidět na *Obrázku 7*. Signály byly zaznamenány při vzorkovací frekvenci 500 Hz.



Obrázek 7 – Biotelemetrický implantát. Vlevo je snímací modul, vpravo telemetrický modul.

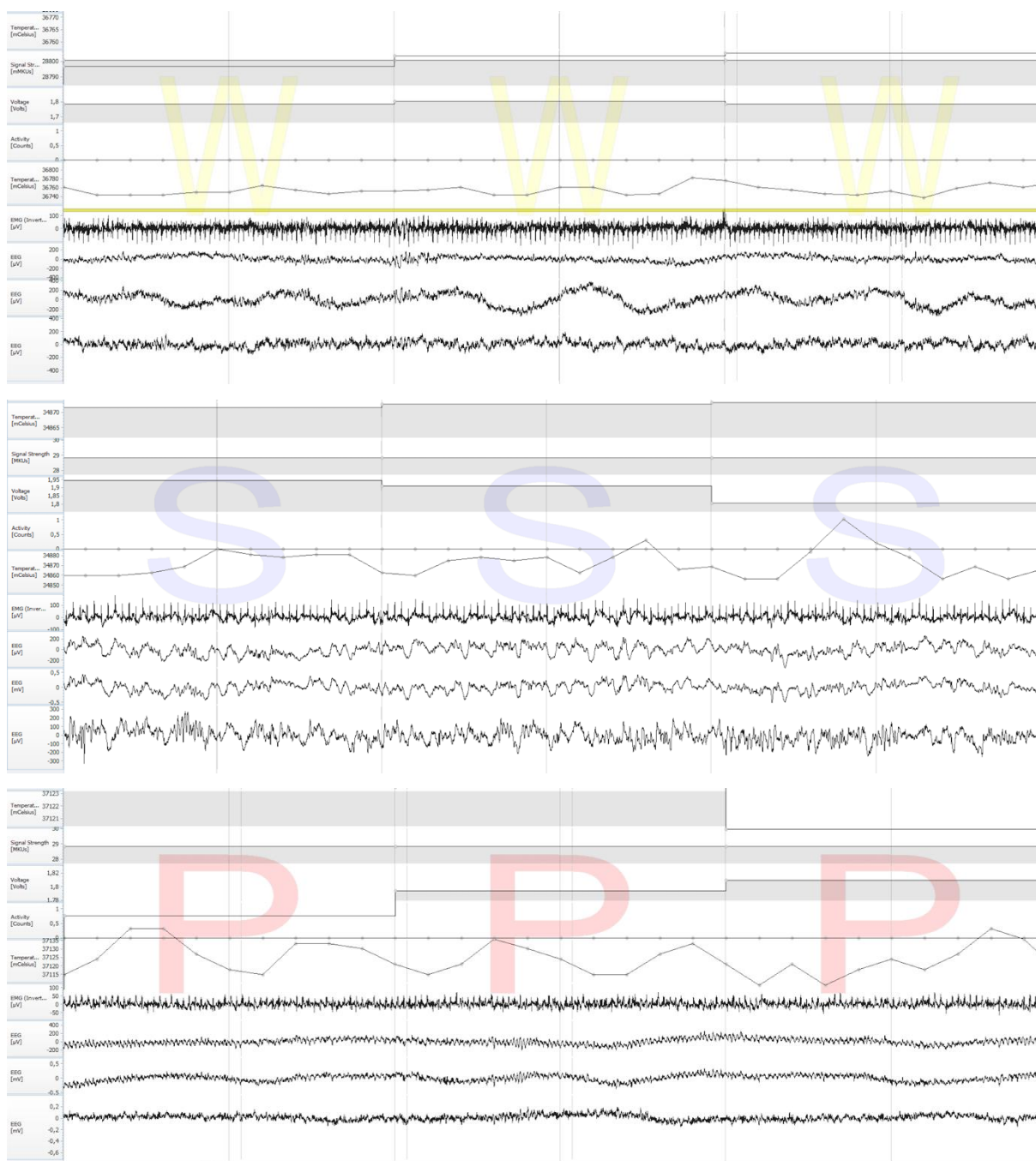


Obrázek 6 – Klec potkanů uložená na přijímací desce.

EEG a EMG data byla hodnocena v programu Neuroscore 3.0 (Data Sciences International, DSI, USA). Všechny záznamy byly vizuálně zkontrolovány při rozlišení epoch po 10 s a nepřesnosti v hodnocení byly ručně opraveny. Jednotlivé epochy pak byly rozlišeny na bdělost (W), NREM spánek, označen jako spánek pomalých vln (SWS) a REM spánek, neboli paradoxní spánek (P).

Jako bdělost byly označeny časové úseky, když se zvíře aktivně pohybovalo, signály pak byly charakterizovány nepravidelnými signály EEG o vysoké frekvenci a nízké amplitudě, EMG o vysoké amplitudě bylo také nepravidelné. Epoque NREM spánku definovaly pomalé vlny o různé amplitudě a velmi pomalé frekvenci v delta pásmu (0,5-4 Hz), EMG bez výrazné aktivity. REM spánek pak svalová atonie způsobující velmi nízkou amplitudu EMG a EEG aktivitu především v pásmu theta (4-8 Hz).

Ukázkové záznamy signálů bdělosti, NREM a REM spánku jsou zobrazeny na *Obrázku 8*.



Obrázek 8 – Ukázka jednotlivých stavů – bdělost (W), NREM spánek (S) a REM spánek (P) při analýze v programu Neuroscore.

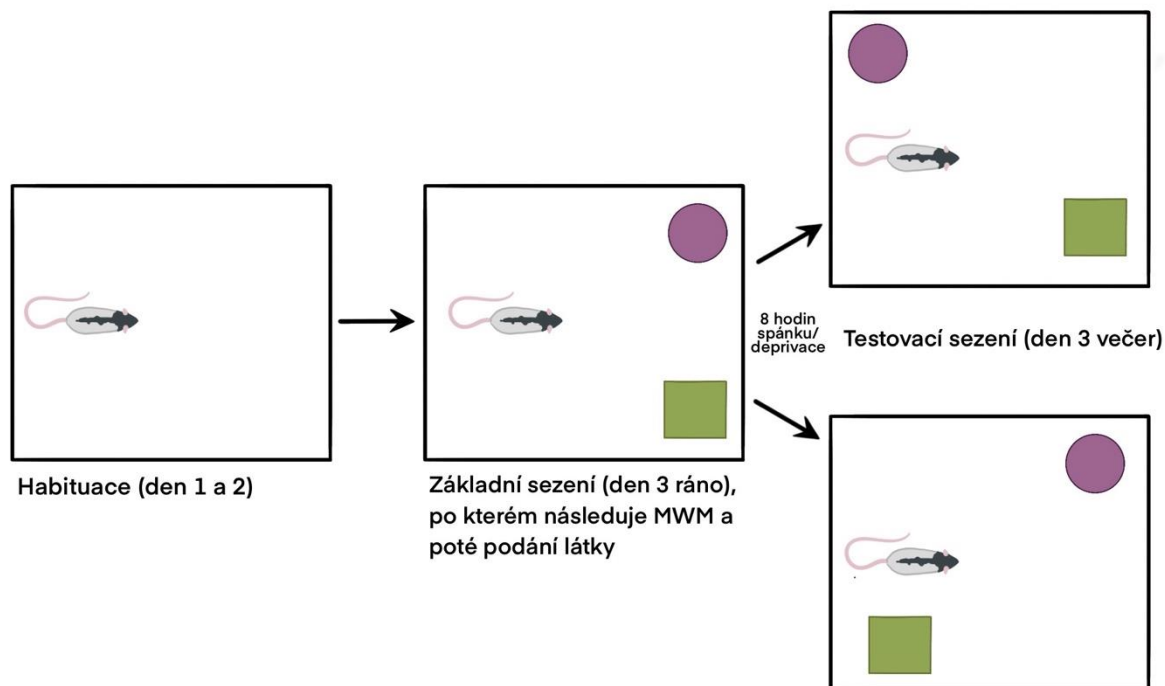
5.5 Behaviorální paměťové úlohy

Prostorová navigace jako taková se dá považovat za behaviorální projev znalosti prostředí, kdy se vytváří kognitivní mapa (Tolman, 1948) a je užitečnou a experimentálně dobře dostupnou analogií deklarativní paměti v animálních modelech (O'Keefe et al., 1978; Morris, 1981). Pomocí behaviorálních úloh se dá testovat získávání, konsolidace a také vybavení si paměti dlouhodobé i pracovní.

Zvířata vždy nejdříve absolvovala úlohu Rozpoznání místa objektu (OPR, Object Place Recognition) a následně úlohu Morrisova vodního bludiště (MWM, Morris Water Maze). Každý z behaviorálních testů kombinoval manipulaci se spánkem (spánek vs. spánková deprivace) s předcházejícím podáním látky (psilocybin, MDL100907, psilocybin + MDL100907, kontrolní vehikulum).

5.5.1 Rozpoznání místa objektu

Potkani byli před začátkem pokusu habituováni ve dvou sezeních v openfield aréně o velikosti 80x80 cm, složené z černých plastových desek. Po dobu pěti minut se ponechali volně explarovat v prázdné aréně. Samotný experiment se sestával ze základního a testovacího sezení. V ranním základním sezení byly do stejné arény upevněny dva rozdílné předměty (Lego Duplo), aby si zvířata zapamatovala jejich polohu. V pokusné místnosti na zdech byly barevně i tvarově odlišné značky, aby potkanům umožnily alocentrickou navigaci. Místnost byla osvětlená světlem nízké intenzity a byla zvukotěsná. Ranní základní sezení začínalo každý týden v 7:30 ráno. Po ukončení základního OPR sezení absolvovali potkani základní MWM sezení a pak se ponechali spát, či byli spánkově deprivováni. Večer se odehrálo testovací sezení, přičemž se změnila poloha jednoho objektu a měřila se doba zkoumání jednotlivých předmětů v aréně. Jako zkoumání jsme považovali přiblížení čenichu zvířete na 1 cm či méně od objektu. V základním i testovacím sezení bylo volné explorativní chování zaznamenáno pomocí webových kamer Basler (acA1300-60gc, Basler AG) po dobu 2 min (Sonja Binder et al., 2012; 2015). Chování bylo pak zpracováno v programu Noldus Ethovision XT a Observer XT 14 (Noldus, NL). V analýze byl vypočítán index preference (P-index) jako podíl doby zkoumání posunutého objektu a celkové doby zkoumání obou objektů (Sonja Binder et al., 2012), díky kterému byla vyloučena preference jednoho z předmětů v základním sezení. Ke statistické analýze byly použity rozdíly mezi dobou průzkumu posunutého objektu v testovacím a základním sezení a byly porovnány mezi jednotlivými látkami a spánkovou manipulací (spánek/deprivace). Arény byly mezi jednotlivými zvířaty důsledně očištěny a omyty 70% ethanolem, aby zvířata neovlivňovaly pachové stopy při exploraci a nezkreslovaly tak výsledky. Ilustrace průběhu experimentu je zobrazena níže na *Obrázku 9*.

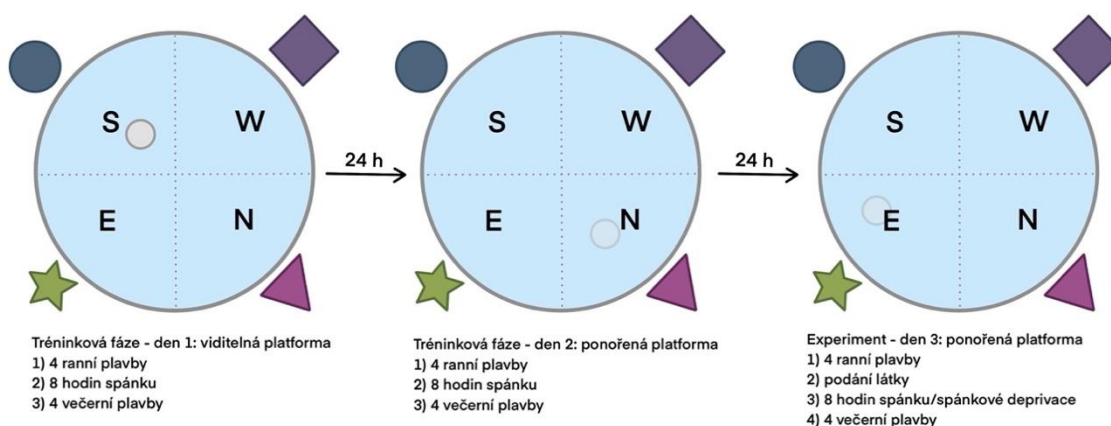


Obrázek 9 – Zvířata byla nejdříve habituována v pázdne aréně. V ranním základním sezení jim byly prezentovány dva předměty. Ve večerním sezení byl jeden z předmětů přesunut. Vytvořeno v ProCreate.

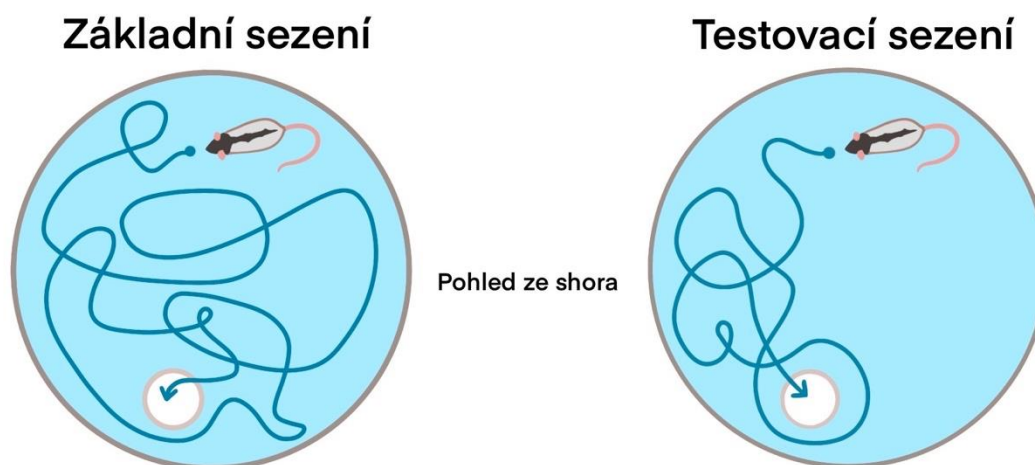
5.5.2 Morrisovo vodní bludiště

Morrisovo vodní bludiště je šedá plastová kruhová nádrž o průměru 180 cm a výšce 50 cm, která je naplněna vodou do 40 cm výšky a udržovaná na 21 °C. Do nádrže se do jednoho z definovaných kvadrantů, které byly označeny výraznou barevně i tvarově odlišnou značkou nad okrajem nádrže, umístila přibližně 1,5 cm pod hladinu malá průhledná úniková plošina z plastu o průměru 10 cm. Zvířata byla opět prvně v aréně habituována ve dvou sezeních, než začal samotný experiment. Potkani byli vypouštěni do bludiště čelem ke stěně ze světových stran kompasu (S, SZ, Z, JZ, J, JV, V a SV) v pseudo-náhodném pořadí. Ranní základní sezení začínalo přibližně v 8 hodin, po dokončení OPR. Pokus byl ukončen, když potkan našel únikovou plošinu a vylezl na ni. Pokud potkan nenašel únikovou plošinu do 60 s, pokus byl zastaven (latence záznamu 60 s) a potkan byl jemně naveden na plošinu. Časy byly měřeny programem Noldus Ethovision XT a pro kontrolu se čas navíc měřil stopkami. Ranní, základní sezení se skládalo z pěti plaveb. Po nalezení plošiny se potkan ponechal na plošině po dobu 10 s před dalším vypuštěním z jiné pozice. Po absolvování všech plaveb mu byla subkutánně aplikována látka či látky a poté byl přemístěn do klece. Večer (na začátku aktivní fáze) po 8h spánku či spánkové deprivaci byli potkani podrobena testovacímu sezení, které se

skládalo ze 4 plaveb (byla vynechána první vypouštěcí pozice ze základního sezení), plošina byla na stejné pozici a byl opět zaznamenáván čas, aby se dala posléze posoudit úspěšnost konsolidace paměti. Každý týden (a tedy každý pokus s další látkou) byla poloha plošiny změněna, aby zvířata procházela procesem učení a konsolidace paměti každý týden znovu. Ilustrace aparatury a průběhu pokusu je zobrazena níže (Obrázek 10 a 11).



Obrázek 10 – Nejdříve byli potkani ve vodním bludišti učeni najít viditelnou platformu. Na dalším tréninku byla platforma ponořena pod hladinu. V den experimentu byla platforma přesunuta na nové místo a proběhly ranní a večerní testovací plavby. Vytvořeno v ProCreate.



Obrázek 11 – V základním sezení (ranní plavby) se potkani snaží nalézt platformu a učí se tak její pozici. V testovacím sezení (večerní plavby) by po dostatečné konsolidaci paměti měli plošinu najít rychleji s kratší uplavanou vzdáleností. Vytvořeno v ProCreate.

5.5.3 Statistická analýza

Experimentální data jsou prezentována jako průměr \pm směrodatná odchylka (SD) a "N" označuje počet potkanů ve skupině. Za statisticky signifikantní rozdíly byly považovány hodnoty $p < 0,05$. Odlehlé hodnoty byly identifikovány pomocí ROUT (Q = 1%) testu a byly vyřazeny z další analýzy. Všechny statistické analýzy byly provedeny v programu Graph Pad Prism 10.

Normalita rozložení dat a homogenita rozptylů byly ověřeny pomocí Anderson-Darlingova testu a Barlettova testu. Data, která vykazovala normální rozdělení a homogenitu rozptylů, byla analyzována samostatně parametrickým testem – dvoucestnou analýzou variance (ANOVA) následovanou Tukeyho posthoc testem. Data, která normální rozložení a homogenitu rozptylů nevykazovala, byla buďto transformována logaritmizací, nebo analyzována neparametrickým Kruskal-Wallisovým testem s následným Dunnovým posthoc testem.

6 Výsledky

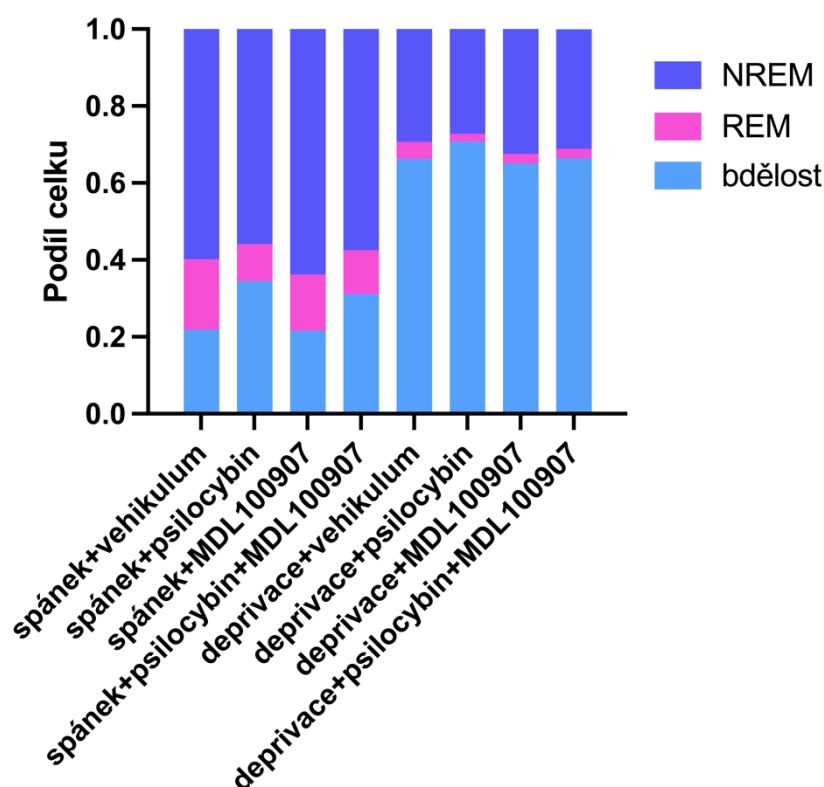
6.1 Efekt agonistů a antagonistů na spánkovou architekturu

EEG záznamy byly vyhodnoceny v programu Neuroscore a množství REM spánku, NREM spánku a bdělosti mezi experimentálními skupinami bylo porovnáno pomocí dvoucestné ANOVy.

6.1.1 Podíly jednotlivých fází spánků a bdělosti

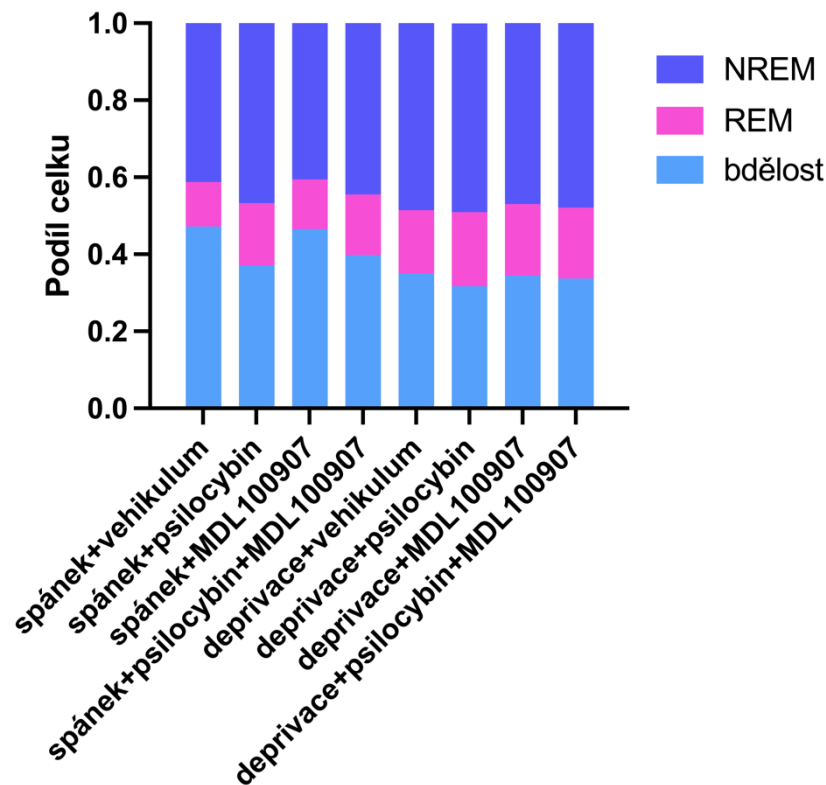
Na přehledných souhrnných *Grafech 1 a 2* je zevrubně znázorněno setrvání v jednotlivých fázích během denního i nočního měření. Účinnost deprivace lze vidět zvýšenou bdělostí během neaktivní fáze potkanů a velké omezení REM fáze spánku.

Čas strávený v jednotlivých fázích přes den



Graf 1 – Čas strávený v jednotlivých fázích NREM, REM a bdělosti během 8h denního měření.

Čas strávený v jednotlivých fázích přes noc



Graf 2 – Čas strávený v jednotlivých fázích NREM, REM a bdělosti během 13h nočního měření.

6.1.2 Podrobná analýza jednotlivých fází spánků a bdělosti

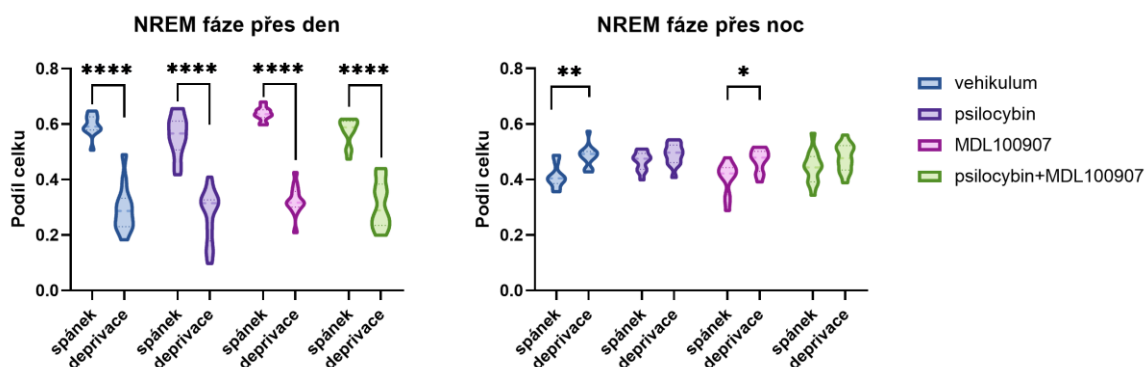
NREM spánek ve dne

Dvoucestná ANOVA prokázala signifikantní efekt manipulace se spánkem ($F_{1, 93} = 478,9$; $p < 0,0001$) a podle Tukeyho posthoc testu všechny skupiny zvířat, které byly spánkově deprivovány, strávily v NREM fázi spánku signifikantně méně času než zvířata, která nerušeně spala ($p < 0,0001$). Ačkoliv dvoucestná ANOVA prokázala signifikantní efekt i samotného podání látky ($F_{3, 93} = 3,956$; $p = 0,0106$) následný Tukeyho test signifikantní rozdíly mezi skupinami neprokázal (viz Graf 3).

NREM spánek v noci

Dvoucestná ANOVA prokázala signifikantní vliv manipulace se spánkem ($F_{1, 93} = 28,7$; $p < 0,0001$). Následný Tukeyho posthoc test potvrdil, že kontrolní skupina zvířat a skupina s MDL100907, která byla spánkově deprivovaná přes den, pak v noci strávila v NREM spánku signifikantně více času, než zvířata, která přes den nerušeně spala ($p < 0,05 - p = 0,0022$).

Ačkoliv dvoucestná ANOVA opět prokázala signifikantní efekt i samotného podání látky ($F_{3, 93} = 3,701$; $p = 0,0145$) následný Tukeyho test neprokázal signifikantní rozdíly v množství NREM spánku mezi skupinou, které bylo aplikováno vehikulum a skupinami, které byly injikovány psilocybinem a/nebo MDL100907 (*Graf 3*).



Graf 3 – Setrvání v NREM fázi spánku během 8h denního a 13h nočního měření. Dvoucestná ANOVA prokázala signifikantní rozdíl doby strávené v NREM fázi v každé skupině látky mezi deprivovanou a nedeprivovanou skupinou ($p < 0,05 - p < 0,0001$). Během analýzy nočního měření byl objeven signifikantní rozdíl doby strávené v NREM fázi u zvířat v kontrolní skupině ($p = 0,0022$) a skupině s MDL100907 ($p = 0,0207$) mezi deprivovanými a nedeprivovanými zvířaty. $N=15$.

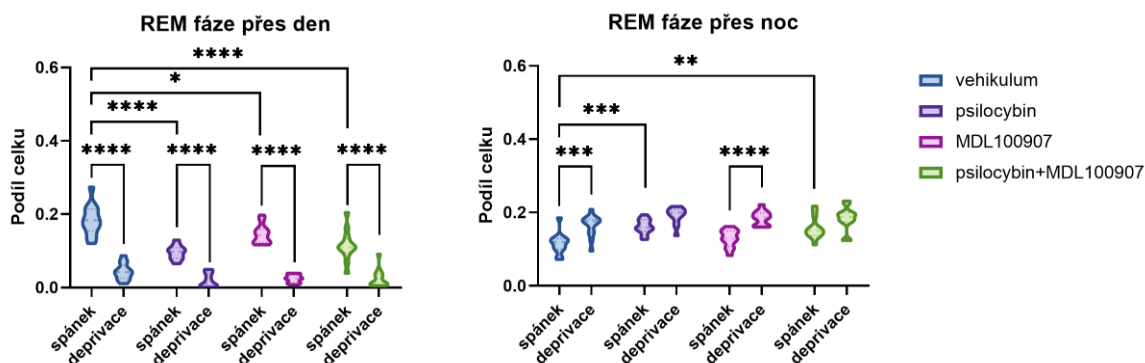
REM spánek přes den

Dvoucestná ANOVA prokázala signifikantní efekt manipulace se spánkem ($F_{1, 93} = 378,3$; $p < 0,0001$), efekt podané látky ($F_{3, 93} = 19,66$; $p < 0,0001$) i efekt interakce ($F_{3, 93} = 7,099$; $p = 0,0002$). Podle Tukeyho posthoc testu všechny skupiny zvířat, které byly spánkově deprivovány, strávily v REM fázi spánku signifikantně méně času než zvířata, která nerušeně spala ($p < 0,0001$). Podání psilocybinu způsobilo signifikantní snížení doby strávené REM spánkem v porovnání s podáním vehikula u nerušených zvířat ($p < 0,0001$), přičemž toto snížení nebylo vyblokováno současným podáním psilocybinu a MDL100907 ($p < 0,0001$). I samotné podání MDL100907 vedlo k menšímu, ale statisticky signifikantnímu snížení pozorovaného množství REM spánku u nerušených zvířat ($p = 0,0178$) (*Graf 4*).

REM spánek přes noc

Dvoucestná ANOVA prokázala signifikantní efekt manipulace se spánkem ($F_{1, 93} = 60,67$; $p < 0,0001$) i vliv podané látky ($F_{3, 93} = 9,746$; $p < 0,0001$), zatímco vliv interakce manipulace a podané látky signifikantní nebyl ($F_{3, 93} = 1,896$; ns $p = 0,1357$). Tukeyho posthoc test ukázal, že zvířata, která byla ponechána nerušeně spát přes den a byl jim aplikován psilocybin nebo kombinace psilocybinu a MDL, pak strávila v noci signifikantně vyšší dobu v REM spánku než zvířata, kterým bylo aplikováno vehikulum ($p = 0,0007$ a

$p = 0,0028$). Aplikace MDL nedeprivovaným zvířatům REM spánek v noci neovlivnila ($p = 0,905$). Zvířata, která byla přes den deprivována a bylo jim aplikováno vehikulum a nebo MDL strávila v noci signifikantně více času v REM spánku ($p = 0,0002$ a $p < 0,0001$). Deprivovaná zvířata kterým byl aplikován psilocybin nebo kombinace psilocybin a MDL sice také v noci strávila více času v REM spánku, tyto rozdíly však nebyly oproti nedeprivovaným statisticky významné ($p = 0,0913$ a $p = 0,165$) (Graf 4).



Graf 4 – Setrvání v REM fázi spánku během 8h denního a 13h nočního měření. Dvoucestná ANOVA denních měření prokázala signifikantní rozdíl doby strávené REM fázi v každé skupině látky mezi deprivovanou a nedeprivovanou skupinou ($p < 0,0001$). Dále ukázala signifikantní efekt podání všech kombinací látek s kontrolní skupinou ($p = 0,0178 - p < 0,0001$). Během analýzy nočního měření byla objeven signifikantní rozdíl doby strávené v REM fázi u zvířat v kontrolní skupině ($p = 0,0002$) a skupině s MDL100907 ($p < 0,0001$) mezi deprivovanými a nedeprivovanými zvířaty. Dále byla zjištěna signifikantní rozdíl v době REM spánku u nedeprivovaných zvířat mezi kontrolní skupinou a skupinou s psilocybinem ($p = 0,0007$), a kontrolní skupinou a skupinou s psilocybinem+MDL100907 ($p = 0,0028$) $N=15$.

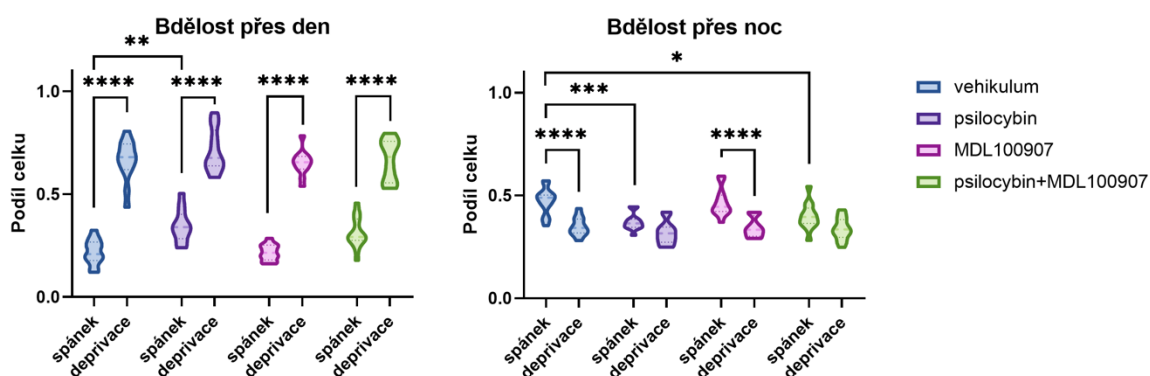
Bdělost přes den

Dvoucestná ANOVA prokázala signifikantní efekt manipulace se spánkem ($F_{1, 93} = 612,3$; $p < 0,0001$) a podle Tukeyho posthoc testu všechny skupiny zvířat, které byly spánkově deprivovány, strávily vzhůru signifikantně více času než zvířata, která nerušeně spala ($p < 0,0001$). Dále byl prokázán signifikantní efekt podané látky ($F_{3, 93} = 7,156$; $p = 0,0002$) a následný Tukeyho posthoc test potvrdil, že zvířata, která byla ponechána nerušeně spát a byl jim aplikován psilocybin, přesto strávila signifikantně více času vzhůru v porovnání s kontrolní skupinou ($p = 0,0044$). Vliv interakce signifikantní nebyl ($F_{3, 93} = 2,197$; $p = 0,0936$) (Graf 5).

Bdělost přes noc

Dvoucestná ANOVA prokázala signifikantní efekt manipulace se spánkem ($F_{1, 93} = 64,79$; $p < 0,0001$), signifikantní efekt podané látky ($F_{3, 93} = 8,056$; $p < 0,0001$) i interakce ($F_{3,93} = 2,786$; $p = 0,0451$). Zvířata, která byla přes den spánkově deprivována, byla v noci

vzhůru signifikantně méně času než zvířata, která nerušeně spala a to po aplikaci vehikula ($p < 0,0001$) a MDL100907 ($p < 0,0001$). U zvířat, kterým byl aplikován psilocybin nebo psilocybin v kombinaci s MDL nebyl pozorován signifikantní rozdíl mezi deprivovanými a nedeprivovanými zvířaty ($p = 0,2508$ a $p = 0,1091$). Tukeyho posthoc test dále potvrdil, že zvířata, kterým byl aplikován psilocybin nebo kombinace psilocybinu a MDL100907 a mohla nerušeně spát, strávila v noci signifikantně méně vzhůru než zvířata, kterým byl aplikován fyziologický roztok ($p = 0,0005$ a $p = 0,0228$) (Graf 5).



Graf 5 – Setrvání ve stavu bdělosti během 8h denního a 13h nočního měření. Dvoucestná ANOVA denních měření prokázala signifikantní rozdíl doby strávené vzhůru u všech skupin zvířat mezi deprivovanými a nedeprivovanými zvířaty ($p < 0,0001$). Dále ukázala signifikantní rozdíl u nedeprivovaných zvířat, kterým byl aplikován psilocybin a kontrolní skupinou ($p = 0,0044$). Během analýzy nočního měření byl objeven signifikantní rozdíl doby strávené vzhůru mezi deprivovanými a nedeprivovanými zvířaty u zvířat v kontrolní skupině ($p = 0,0002$) a skupině s MDL100907 ($p < 0,0001$). Dále byla zjištěn signifikantní rozdíl v době strávené vzhůru u nedeprivovaných zvířat mezi kontrolní skupinou a skupinou s psilocybinem nebo psilocybin a MDL100907 ($p = 0,0007$ a $p = 0,0028$). $N=15$.

Nástup REM fáze spánku

Tato analýza nám umožnila sledovat efekt podání látky a manipulace se spánkem na latenci nástupu REM spánku, který byl delší než 1 min. Analýza byla provedena v ranním i nočním EEG záznamu.

Nástup REM spánku přes den

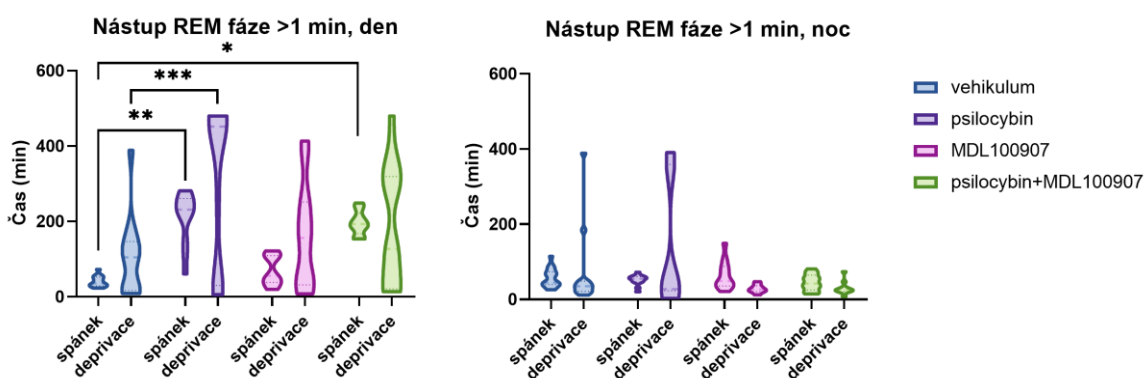
Ačkoliv dvoucestná ANOVA prokázala signifikantní efekt manipulace se spánkem ($F_{1,93} = 7,4533$; $p = 0,0076$), následný Tukeyho posthoc test konkrétní signifikantní rozdíly mezi deprivovanými a nedeprivovanými zvířaty neprokázal.

Dále byl prokázán signifikantní efekt podané látky ($F_{3,93} = 12,94$; $p < 0,0001$). Tukeyho testem jsme potvrdili, že doba latence REM spánku u nedeprivovaných zvířat, kterým byl aplikován psilocybin nebo psilocybin s MDL100907 byl signifikantně vyšší než u kontrolní

skupiny ($p = 0,0096$ a $p = 0,0227$). I u deprivovaných zvířat způsobila aplikace psilocybinu signifikantní prodloužení doby nástupu REM spánku oproti zvířatům, jimž bylo aplikováno vehikulum ($p = 0,0005$). Vliv interakce signifikantní nebyl ($F_{3, 93} = 1,016$; $p = 0,3891$) (viz Graf 6).

Nástup REM spánku v noci

Dvoucestná ANOVA neprokázala signifikantní efekt manipulace se spánkem ($F_{1,90} = 0,5153$; $p = 0,4747$) ani signifikantní efekt podané látky ($F_{3, 90} = 2,503$; $p = 0,0643$). Vliv interakce signifikantní byl ($F_{3, 90} = 2,796$; $p = 0,0447$). Hodnoty vykazovaly normální rozdělení s výjimkou 7 hodnot (ze 197), které byly na základě ROUT testu z analýzy vyřazena. Ale následný posthoc test neprokázal žádné konkrétní signifikantní rozdíly v době nástupu REM spánku mezi sledovanými skupinami (Graf 6).



Graf 6 – Nástup REM fáze spánku delší než 1 min během denního měření. Výsledky měření byly analyzovány dvoucestným ANOVA testem, kde se ukázalo, že je signifikantní efekt nástupu REM fáze u nedeprivovaných zvířat mezi kontrolní skupinou a psilocybinem ($p = 0,0096$), dále pak mezi kontrolní skupinou a skupinou psilocybin+MDL100907 ($p = 0,0227$); u deprivovaných zvířat vyšel signifikantní efekt mezi kontrolní skupinou a psilocybinem ($p = 0,0005$). Vliv interakce signifikantní nebyl ($F_{3, 93} = 1,016$; $p = 0,3891$). Nástup REM fáze spánku delší než 1 min během nočního měření. Výsledky měření analyzovány dvoucestným ANOVA testem a nebyl nalezený žádný signifikantní efekt. $N=15$.

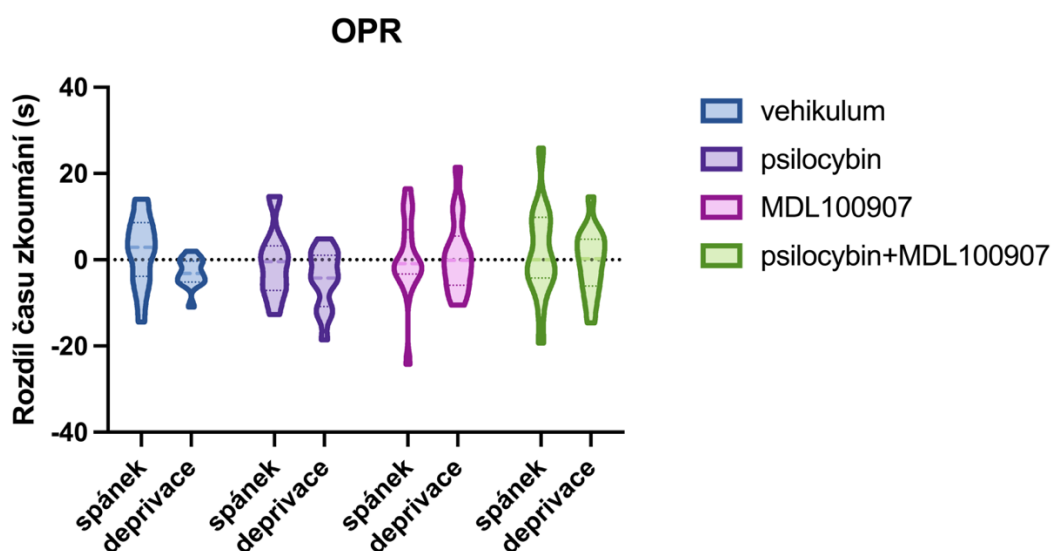
6.2 Paměťové úlohy

6.2.1 OPR

Vstupními parametry k vyhodnocení testu Object Place Recognition byl P-index (čas strávený prozkoumáváním přesouvaného předmětu/(čas strávený prozkoumáváním nepřesouvaného + přesouvaného předmětu) v základním sezení) a rozdíl mezi časem stráveným průzkumem přesouvaného předmětu testovací - základní sezení. Zjištěná hodnota P-indexu

($0,488 \pm 0,211$, průměr \pm SD) vyjadřuje téměř vyrovnaný poměr času stráveného prozkoumáním nepřesouvaného a přesouvaného předmětu vylučující spontánně biasovanou preferenci potkanů v ranním sezení. Hodnoty rozdílu času prozkoumání přesouvaného předmětu mezi testovacím a základním sezením vykazovaly normální rozdělení s výjimkou jedné hodnoty (z 200), která byla na základě ROUT testu z analýzy vyřazena. Tento parametr nebyl signifikantně ovlivněn žádným z testovaných faktorů (podaná látka a manipulace). Dvoucestná ANOVA neprokázala signifikantní efekt manipulace se spánkem ($F_{1, 111} = 2,618$; $p = 0,5920$) ani signifikantní efekt podané látky ($F_{3, 111} = 0,9777$; $p = 0,4060$). Vliv interakce signifikantní také nebyl ($F_{3, 111} = 0,6382$; $p = 0,5920$).

Psilocybin, MDL100907, jejich kombinace ani spánková deprivace neměly významný vliv na konsolidaci paměti v této úloze (*Graf 7*).



Graf 7 – Rozdíl času zkoumání posunutého předmětu večer–ráno. Hodnoty nad nulou značí delší zkoumání posunutého předmětu večer, v testovacím sezení. Podání látky ani spánková manipulace neměly vliv na konsolidaci paměti v této úloze. K analýze byla použita dvoucestná ANOVA. Vliv podání látky $F(3, 111) = 0,9777$, $p = 0,4060$, vliv manipulace $F(1, 111) = 2,618$ $p = 0,1085$, ani vliv interakce $F(3, 111) = 0,6382$, $p = 0,5920$ nebyly signifikantní. $N=15$.

6.2.2 MWM

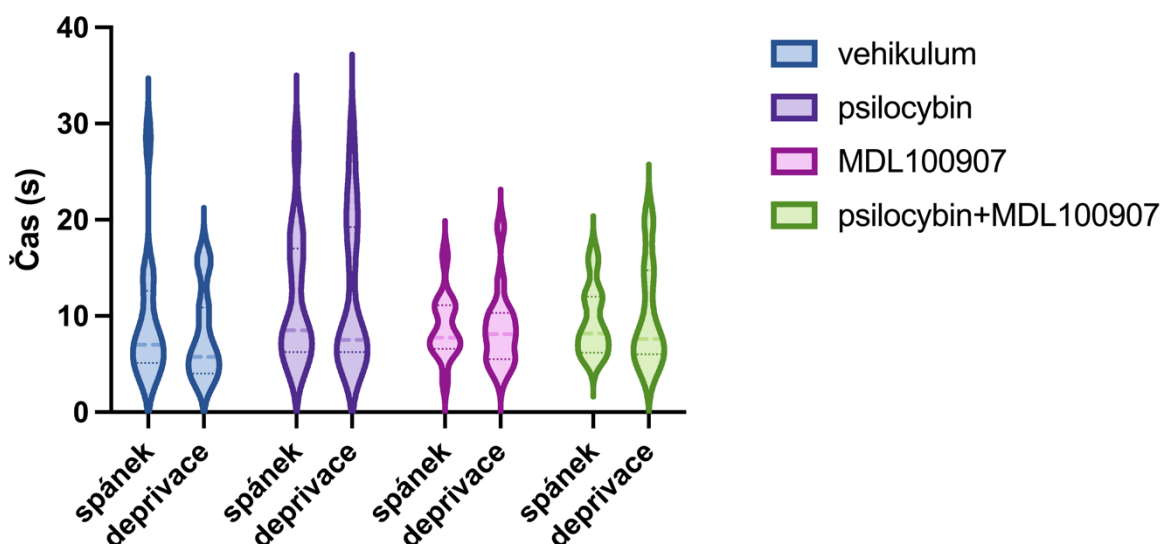
Průměrná doba nalezení platformy

Výstupním parametrem Morrisova vodního bludiště byl průměr rozdílů latencí vyhledání plošiny (s) mezi základním a testovacím sezením. První latence nalezení platformy v základním sezení nebyla v analýzách zahrnuta, použity byly pouze následující čtyři plavby. ROUT testem

($Q = 1\%$) bylo z analýzy vyřazeno 6 odlehlých hodnot z celkových 200 měření. Anderson-Darlingovým testem bylo zjištěno, že data nejsou normálně distribuována. K dosažení normální distribuce proto byla použita log transformace ($Y = \log(Y)$), která byla potvrzena opětovným provedením Anderson-Darlingova testu. Dvoucestná ANOVA neprokázala signifikantní efekt manipulace se spánkem ($F_{1, 106} = 0$; $p = 0,6637$) ani signifikantní efekt podané látky ($F_{3, 106} = 2$; $p = 0,1100$). Vliv interakce signifikantní také nebyl ($F_{3, 106} = 0$, $p = 0,9551$).

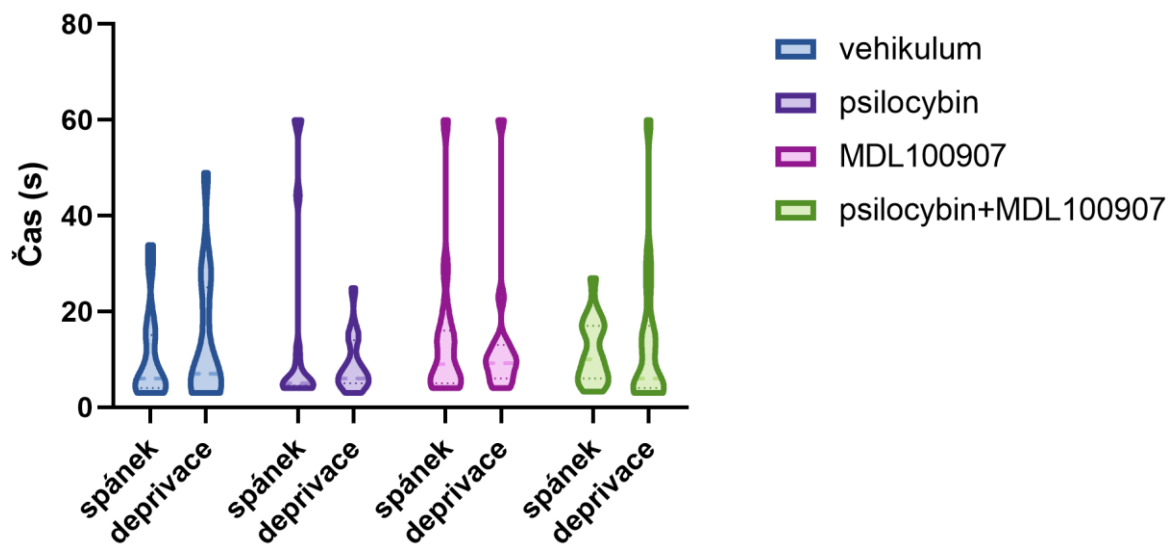
Psilocybin, MDL100907 ani spánková deprivace neměly významný vliv na konsolidaci paměti v této úloze (Graf 8).

Průměrný čas nalezení platformy ráno – večer



Graf 8 – Průměrný čas nalezení platformy ráno–večer. Podání látky ani spánková manipulace neměly vliv na konsolidaci paměti v této úloze. K analýze byla použita dvoucestná ANOVA. Efekt podání látky $F(3, 106) = 2$, $p = 0,1100$, vliv manipulace ($F(1, 106) = 0$, $p = 0,6637$), ani vliv interakce ($F(3, 111) = 0$, $p = 0,9551$) nebyly signifikantní. $N=15$.

Dále byly zanalyzovány doby latence nalezení plošiny první plavby v testovacím sezení. Testem ROUT ($Q = 1\%$) bylo vyřazeno 8 odlehlých hodnot z 200 a Anderson-Darlingovým testem bylo zjištěno rozložení dat mimo normalitu. Pro další analýzu byl tedy použit neparametrický Kruskal-Wallis test, který v datech neukázal žádný signifikantní efekt. Psilocybin ani antagonist, stejně tak spánková deprivace neměly významný vliv na latenci nalezení plošiny první testovací plavbě a nejspíše také na konsolidaci paměti v této úloze je (Graf 9).



Graf 9 – Latence nalezení plošiny v první plavbě večerního testovacího sezení. V datech nebyl nalezen žádný signifikantní vliv. $p = 0,2772$, $N=15$.

7 Diskuze

7.1 EEG

V rámci těchto experimentů jsme zavedli metodu chirurgické implementace biotelemetrických modulů, která je sice operativně náročnější, ale pomocí telemetrického zařízení se nám podařilo kontinuálně nahrávat EEG a EMG po dobu osmi týdnů a vyhodnotit tak jednotlivé fáze spánku a bdělost v cross-over designu, který umožňuje testovat kombinace aplikace látek a manipulace se spánkem. Deprivovaná zvířata byla podle analýzy záznamů EEG a EMG signifikantně více vzhůru a strávila méně času v NREM i REM spánku oproti skupinám, které byly ponechány nerušeně spát, což dokazuje účinnost použité deprivace metody. Tyto metody mohou být významné pro studium nejen spánkové architektury, ale i potenciálních dlouhodobých vlivů látek na mozkovou činnost, včetně terapeutického potenciálu u psychiatrických poruch.

Bezprostředně po podání psilocybinu byla i zvířata bez spánkové deprivace více vzhůru, což souhlasí s dosavadními objevy v animálních modelech, že podání serotonergních psychedelik oddaluje nástup spánku (Colasanti & Khazan, 1975; Monti & Jantos, 2006; Thomas et al., 2022). LSD, DMT a meskalin způsobují zvýšení bdělosti a inhibici REM i NREM fáze (Colasanti & Khazan, 1975; Kay & Martin, 1978). Po akutním podání ayahuascy obsahující DMT i inhibitory monoaminoxidázy (MAOI) se pak zkrátila doba trvání REM fáze spánku a zvýšená latence jejího nástupu. Ayahuasca také zvýšila SWA v prvním spánkovém cyklu (Barbanj et al., 2008). Tento účinek však může souviset s β -karbolinovými inhibitory monoaminoxidázy MAOI, ty mohou zcela eliminovat REM fáze spánku a snění (Siegel, 2001). U lidí psilocybin také akutně ovlivňuje spánek (Dudysová et al., 2020). Tento účinek by mohl být zajímavý především z hlediska léčebného využití psychedelik. Zvláště, pokud by byl jejich vliv na architekturu spánku spojen s terapeutickými změnami, jaké byly zaznamenány při léčbě deprese či úzkostných poruch. Dlouhodobá modulace REM spánku by mohla naznačovat mechanismy regenerace nebo plasticity mozku.

Ani akutní EEG záznam po aplikaci, ani noční záznam, jehož nahrávání začínalo 10 hodin po aplikaci psilocybinu, neprokázal žádné statisticky signifikantní změny v NREM fázi spánku, což je v souladu se studií (Thomas et al., 2022), ve které podávání psilocinu myším nebylo spojeno s dlouhodobými změnami architektury spánku a bdění, ačkoliv elektrofyziologická

analýza akutní spánkové aktivity naznačila, že u zvířat, kterým byl psilocin injikován, docházelo k rychlému střídání krátkých epizod bdění a mělkého NREM spánku.

Psilocybin sice neměl signifikantní efekt na dobu strávenou v NREM fázi spánku, ale ovlivnil dobu strávenou v REM fázi. Doba strávená v REM fázi byla po aplikaci signifikantně vyšší v kontrolní skupině oproti všem ostatním skupinám podaných látek. To by mohlo naznačovat, že je těmito receptory homeostáza spánku ovlivňována nějak komplexněji. Psilocybin, jakožto agonista 5-HT_{2A} receptorů (mimo jiné) snížil dobu strávenou v REM fázi, ale stejný efekt se objevil i u antagonisty MDL100907, i u jejich kombinace ve skupině volně spících zvířat. Jak už bylo několikrát dokázáno, psilocybin zvyšuje latenci REM spánku a snižuje jeho celkové trvání (Dudysová et al., 2020). Jelikož podání selektivní 5-HT_{2A} antagonisty v kombinaci s psilocybinem zvýšení latence REM spánku nezabránil, je tento efekt nejspíše ovlivněn i jinými receptory, na které psilocybin nasedá, jako například 5-HT_{2B/C}, nebo 5-HT_{1A/B/D/E}, 5-HT_{5A}, 5-HT₆ a 5-HT₇ (Tylš et al., 2014). MDL100907 bylo vždy injikováno několik minut před aplikací psilocybinu, aby se receptory obsadily primárně antagonistou. Zkrácení REM fáze spánku tak může záviset na aktivaci i jiných podtypů 5-HT receptorů, včetně 5-HT_{1A} receptoru (Monti & Jantos, 2005). Efekt na REM spánek mohl být ovlivněn i interakcí mezi 5-HT receptory a jinými neurotransmitery, jako je dopamin či GABA. Navíc je možné, že potkani mohou mít různou citlivost k jednotlivým látkám na základě jejich fyziologického stavu. Tento komplexní vliv na jednotlivé serotoninové receptory poukazuje na možné interakce mezi podtypy receptorů, které mohou ovlivnit různé funkce mozku včetně spánkové architektury. To zdůrazňuje potřebu podrobnější analýzy těchto mechanismů.

V jedné studii (Monti & Jantos, 2006) se ukázalo, že agonista 5-HT_{2A/2C} receptoru zvýšil bdělost a snížil trvání REM fáze i SWS, a antagonisté 5-HT_{2A} a 5-HT_{2C} pouze snížili čas strávený v REM fázi. Aplikace 5-HT_{2A} antagonisty před aplikací agonisty zabránila agonistou indukovanému prodloužení bdělosti a částečné eliminaci SWS, ale nezabránila supresi REM fáze spánku. Antagonista 5-HT_{2C} aplikovaný před agonistou pak nezvrátil změny spánku vůbec. Z toho by mohlo vyplývat, že vlivy na bdění a SWS mohou být zodpovědné mechanismy serotoninových receptorů 5-HT_{2A}. Výsledky této publikované práce souhlasí s našimi výsledky, protože psilocybin a antagonist 5-HT_{2A} MDL100907 v našich experimentech také snížili dobu trvání REM fáze, a stejně tak kombinace MDL100907 s psilocybinem. Jelikož jsme analyzovali NREM fázi jako celek, a ne jeho substadia, nemůžeme posoudit, jak v našem experimentu tato substadia agonista či antagonist ovlivnili.

Efekt podání psilocybinu současně s antagonistou 5-HT_{2A} receptoru MDL100907 u volně spící skupiny nebyl co se týče bdělosti subjektů signifikantně odlišný od kontrolní skupiny, tudíž by se z toho dalo usoudit, že 5-HT_{2A} se na regulaci spánku opravdu podílí. To by souhlasilo s některými dosavadními objevy, že 5-HT_{2A} antagonisté podporují spánek a zvyšují množství SWS u hlodavců i u lidí, a byly klinicky testovány jako potenciální léčba nespavosti (Morairty et al., 2008; Vanover & Davis, 2010).

Další studie ukazují, že antagonisté receptorů 5-HT_{2A} spánek podporují u potkanů i myši (Popa et al., 2005), zatímco u lidí antagonisté receptorů 5-HT_{2A} zvyšují hloubku a celkové udržení spánku. Byly zkoumány při léčbě nespavosti (Monti et al., 2018; Vanover & Davis, 2010). Tyto výsledky se v našem experimentu neprokázaly. Podrobnější analýza jednotlivých substádií NREM by nám mohla o účincích antagonisty ukázat více. Serotoninergní neurony rafeálního jádra jsou aktivnější během bdění oproti spánku a serotonin je široce zahrnut do monoaminergního vzestupného systému vzruchu (*Ascending arousal system*), který se podílí na udržení bdělosti (Saper et al., 2010).

Výzkumy naznačují, že potlačení REM fáze spánku může být zodpovědné za terapeutický efekt některých antidepresiv (Klein et al., 1984). Téměř všechna antidepresiva silně potlačují spánek REM a míra potlačení spánku REM koreluje s klinickým hodnocením udávajícím terapeutickou účinnost antidepresiv (Riemann et al., 2020; S. Wilson & Argyropoulos, 2005).

Skupiny MDL100907 i psilocybin+MDL100907 pak vykazovaly zvýšené trvání REM fáze během následujícího měření v noci. Jelikož během denního měření po aplikaci všech látek byl REM spánek potlačen, během následující noci se jeho trvání zvýšilo, což je v souladu s dalšími studiemi (Kiyono et al., 1965; Mashour et al., 2010). Efekt ale nevyšel signifikantní u skupiny s MDL100907. Ze všech skupin látek však MDL100907 potlačilo REM spánek nejméně výrazně, takže je pravděpodobné, že jeho nižší výskyt během následné noci souhlasí s celkovou homeostázou spánkové architektury a tak poměrem zastoupení jednotlivých spánkových fází.

U deprivovaných skupin nebyl patrný signifikantní efekt aplikace látek na složení spánku, ať už během denního nebo nočního měření. Spánková deprivace je tudíž dle výsledků mnohem silnějším faktorem, který eliminoval vliv látek na fáze spánku během dne i noci.

Co se týče latence nástupu REM fáze spánku během denních měření u nedeprivovaných zvířat, kterým byl aplikován psilocybin nebo psilocybin s MDL100907, byla latence signifikantně vyšší než u kontrolní skupiny. U skupiny psilocybin + MDL100907 byl však rozdíl oproti kontrolní skupině výrazně menší. Z výsledků tedy vyplývá, že antagonist 5-HT_{2A} receptoru zmírnil účinek psilocybinu, ale úplně ho neeliminoval. Je tedy možné, že nástup REM fáze spánku bude modulován i jinými rodinami serotonergních receptorů, než jen 5-HT_{2A}, jak bylo diskutováno výše.

I u deprivovaných zvířat způsobila aplikace psilocybinu signifikantní prodloužení doby nástupu REM spánku oproti kontrolní skupině. U skupiny psilocybin + MDL100907 pak nebyl signifikantní rozdíl v latenci oproti kontrolní skupině. Z toho by se dalo vyvodit, že antagonismus receptorů opravdu nějaký vliv na latenci nástupu REM fáze má. Zde však může důležitou roli hrát také samotná deprivace a její účinnost.

V EEG záznamech z nočního měření jsme žádný signifikantní efekt na nástup REM fáze nepozorovali, ve výsledcích byl ale patrný trend, kdy u deprivované skupiny s psilocybinem byl nástup REM fáze oproti kontrole později. Jiné výzkumy ukazují, že po celkové spánkové deprivaci je obnovení SWS, součásti NREM fáze, výraznější a rychlejší oproti jiným fázím spánku, ve srovnání se selektivní deprivací SWS (De Gennaro et al., 2001; Tarokh et al., 2015). Další studie ukázala, že „zotavovací“ spánek po celkové spánkové deprivaci je charakterizován zvýšením hustoty výkonu v oblasti delta a theta, což reflektuje zvýšení SWA (Dijk et al., 1987) nezbytných při konsolidaci paměti. V další studii se zvýšení SWA neprokázalo (Dudysová et al., 2020).

Limitací těchto experimentů je určitě nevyužití podrobnější analýzy substádií NREM spánku. Většina výsledků se však shodovala s dosavadním zjištěním. Také rozdílná citlivost jednotlivých subjektů, ale i jednotlivých fází spánku na farmakologickou manipulaci, stejně jako možné rozdíly mezi jednotlivými typy receptorů a jejich podtypy, mohly ovlivnit výsledky. Navíc je nutné zohlednit, že aplikace serotonergních psychedelik, jako je psilocybin, nemusí mít stejný efekt na lidské a zvířecí modely kvůli odlišnostem v receptorových systémech. Budoucí výzkum by se měl zaměřit na detailní rozbor rolí jednotlivých serotoninových receptorů a jejich interakcí. To pomůže hlubšímu porozumění těmto komplexním procesům a rozvoji terapeutických možností.

7.2 Behaviorální paměťové úlohy

Podávání psilocybinu, antagonisty MDL100907, jejich kombinace, či manipulace se spánkem v našem experimentálním schématu neměly významný vliv na konsolidaci paměti ve sledovaných behaviorálních úlohách.

7.2.1 OPR

Psilocybin, ani manipulace se spánkem neovlivnily konsolidaci paměti v úloze OPR, a neukázal se ani významný vliv spánkové deprivace na výkon v této úloze. Větší preference jednoho z předmětů v ranním základním sezení byla díky analýze vyloučena.

Naše výsledky jsou v rozporu s očekávanými účinky spánkové deprivace a aktivace serotoninových receptorů. V jiných studiích se ukázalo, že spánek konsolidaci paměti v této úloze zlepšuje (Binder et al., 2012), stejně tak deprivace konsolidaci zamezuje (Binder et al., 2012; Ishikawa et al., 2014; Palchykova et al., 2006), což souhlasí s veřejně uznávaným paradigmatem, že spánek je nezbytný pro uložení paměti závislé na hipokampu.

Stejně tak bylo objeveno, že aktivace 5-HT_{2A} receptoru pomocí selektivního agonisty TCB-2 zlepšil konsolidaci paměti a selektivní antagonist, který působil jako inverzní agonista, konsolidaci zabránil (Zhang et al., 2013). Systémové podávání receptorových 5-HT_{2A} antagonistů vyvolává u potkanů kognitivní deficit (Fedotova & Ordyan, 2010), downregulace či desenzitizace receptorů 5-HT_{2A/C} po opakovaném podávání psilocybinu by také mohla způsobit podobné účinky. Ukázalo se, že stimulace autoreceptorů 5-HT_{1A} a 5-HT_{1B} také zhoršuje učení v úlohách prostorové paměti (Buhot et al., 1995; Herremans et al., 1995). Na tyto serotoninové receptory psilocybin také nasedá, z čehož vyplývá, že zapojení serotoninového systému v konsolidaci paměti musí být komplexnější.

Jedním z důvodů nevydaření tohoto pokusu mohla být denní doba a cirkadiánní rytmus zvířat, které ovlivňují výkon v paměťových úlohách (Binder et al., 2012). Jelikož byly pokusy provedeny na začátku a konci jejich neaktivní fáze, mohla mít tato skutečnost negativní dopad na průběh pokusu. Z výsledků ale vyplývá, že psilocybin paměť nezlepšuje, ale ani nezhoršuje. To souhlasí s nedávnou studií na lidech (Nikolič et al., 2023). V případě dalších pokusů by bylo

zřejmě přínosnější využít více diskriminační úlohu, jako je například osmiramenné bludiště, díky kterému by se dalo lépe definovat, zda si potkan pamatuje pozici ramene s odměnou, jelikož exploraci v OPR úloze mohlo ovlivnit mnoho faktorů. Studie na zvířatech totiž ukázaly, že chování, které nevede k odměně nebo trestu, je velmi obtížně pochopitelné (Phelps a LeDoux 2005).

7.2.2 MWM

Psilocybin, MDL100907, jejich kombinace ani spánková deprivace neměly významný vliv na konsolidaci paměti v této úloze. Data měla při analýze rozložení mimo normalitu, proto byla pro další analýzu transformována podle vzorce $Y = \log(Y)$. Poté bylo u dat Anderson-Darlingovým testem potvrzeno normální rozložení dat a k další analýze byla použita dvoucestná ANOVA. Podaná látka, manipulace se spánkem ani interakce mezi nimi nebyly signifikantní. To se neshoduje s dalšími studii, které ukazují, že je po spánkové deprivaci zhoršená konsolidaci paměti a zvířata pak podávají v této úloze horší výkon oproti kontrole (Saygin et al., 2017; Walsh et al., 2011; Yang et al., 2008; G. Zhang et al., 2017). V souladu s jinými studii ale je, že psilocybin nezhoršuje ani nezlepšuje paměť (Carter et al., 2005; Nikolič et al., 2023; Rambousek et al., 2014). Ačkoliv má velký neuroplastický potenciál, mechanismy vlivu na paměť mohou být složitější.

Koncept této úlohy spočívá v tom, že se zvíře musí naučit používat distální značky k navigaci k plošině pod vodou, i když začíná z náhodných míst po obvodu nádrže. Plošina byla ve večer v testovacím sezení vždy na stejném místě, jako ráno v základním sezení. Prostorové značky umožňující potkanům prostorovou navigaci byly dobře viditelné a také vždy na stejném místě. V experimentální místnosti bylo ticho, stejné světelné podmínky a protokoly prováděli experimentátoři, na které byli potkani zvyklí. Ačkoliv je MWM robustní a spolehlivá metoda, mohlo nastat několik situací, které mohly výsledky zkreslit. Jedním z možných negativních efektů na výsledek pokusu mohlo být, že úloha pro potkany nebyla dostatečně stresující, aby měli nutkání platformu rychle najít a z bludiště „uniknout“. První dva týdny byli potkani trénováni podle protokolu, pak následovalo 8 testovacích týdnů. Je možné, že si potkani na úlohu tak zvykli, že úlohu nebrali jako nutný únik z nepříjemného prostředí. Či naopak, úloha mohla být pro potkany natolik nepříjemná a stresující, že se zabránilo správnému vytvoření paměti. V průběhu experimentu jsme ani jednu z možností nikterak výrazně nezaznamenali.

Při analyzování doby latence nalezení plošiny první plavby v testovacím sezení bylo zjištěno Anderson-Darlingovým testem rozložení dat mimo normalitu. Pro další analýzu byl tedy použit neparametrický Kruskal-Wallis test, který v datech neukázal žádný signifikantní efekt. Psilocybin ani antagonist, stejně tak spánková deprivace neměly významný vliv na latenci nalezení plošiny v první testovací plavbě a nejspíše ani na konsolidaci paměti v této úloze.

Různé paměťové úlohy mohou zapojovat odlišné neuronální dráhy a kognitivní procesy. MWM hodnotí především prostorovou paměť, stejně jako OPR úloha. Je možné, že interference mezi těmito dvěma úlohami mohla zamezit získání validních výsledků v těchto robustních úlohách.

8 Závěr

Stále více důkazů naznačuje, že expozice psilocybinu za vhodných podmínek podporuje dlouhodobé pozitivní účinky na psychickou pohodu. V posledních letech je výzkum psychedelik neustále na vzestupu díky slibným výsledkům serotonergních psychedelik jako terapeutického prostředku při léčbě deprese, úzkosti a dalších psychiatrických onemocnění. Rozsáhlý preklinický výzkum nabízí možnost pochopení mechanismu jejich účinku a případné léčby.

Pozorované změny ve spánkové architektuře po podání psilocybinu a antagonisty 5-HT_{2A} receptoru MDL100907 byly v této práci úspěšně popsány a diskutovány, ale bohužel se nám nepodařilo objasnit interakci spánku či deprivace a funkce 5-HT_{2A} receptorů v konsolidačních paměťových procesech.

Psilocybin signifikantně zkracuje dobu strávenou v REM spánku po jeho aplikaci, stejně jako prodlužuje dobu nástupu REM spánku. Naše výsledky jsou v souladu s publikovanými studiemi, a jelikož řada studií naznačuje, že potlačení REM fáze spánku může být součástí terapeutického efektu antidepresiv, je studium spánkové architektury po aplikaci psilocybinu nesmírně zajímavé. Pro získání detailnějšího pohledu na roli 5-HT_{2A} receptorů v architektuře spánku, by bylo vhodnější vypracovat podrobnější analýzu substádií NREM spánku v získaných EEG záznamech.

Nepodařilo se otestovat konsolidaci paměti v behaviorálních úlohách OPR a MWM v námi zvoleném experimentálním schématu, jelikož spánková deprivace ani podání psilocybinu a/nebo antagonisty nevedlo ke zlepšení, ani ke zhoršení paměti u našich experimentálních zvířat. Pro budoucí výzkum v této problematice, by bylo vhodné zvolit jiný experimentální přístup a schéma, které by pomohlo lépe objasnit úlohu 5-HT_{2A} receptorů v procesu konsolidace paměti.

Určení společných mechanismů účinku psychedelik u lidí i hlodavců by bylo velkým pokrokem a bude vyžadovat pečlivé použití látek se známými i neznámými farmakologickými profily spolu s translačními nástroji, jako je EEG a magnetická rezonance.

9 Použitá literatura

Sekundární citace jsou značeny *

- Aghajanian, G. K., & Marek, G. J. (1999a). Serotonin and Hallucinogens. In *Neuropsychopharmacology* (Vol. 21). *
- Aghajanian, G. K., & Marek, G. J. (1999b). Serotonin, via 5-HT receptors, increases EPSCs in layer V pyramidal cells 2A of prefrontal cortex by an asynchronous mode of glutamate release. In *Brain Research* (Vol. 825).
- Agranoff, B. W., & Klinger, P. D. (1964). Puromycin Effect on Memory Fixation in the Goldfish. *Source: Science, New Series, 146*(3646), 952–953.
- Aguirre, G. K., Detre, J. A., Alsop, D. C., & Esposito, M. D. (1996). The Parahippocampus Subserves Topographical Learning in Man. *Cerebral Cortex, 6*(6), 823–829.
- Aidman, E., Jackson, S. A., & Kleitman, S. (2019). Effects of sleep deprivation on executive functioning, cognitive abilities, metacognitive confidence, and decision making. *Applied Cognitive Psychology, 33*(2), 188–200.
- Amaral, D. G., & Witter, M. P. (1989). The three-dimensional organisation of the hippocampal formation: A review of anatomical data. *Neuroscience, 31*(3), 571–591. *
- Anas Imtiaz, S., & Rodriguez-Villegas, E. (2014). *Evaluating the Use of Line Length for Automatic Sleep Spindle Detection*. 5024–5027.
- Asikainen, M., Toppila, J., Alanko, L., Ward, D. J., Stenberg, D., & Porkka-Heiskanen, T. (1997). Sleep deprivation increases brain serotonin turnover in the rat. *Neuroreport, 8*(7), 1577–1582.
- Atkinson, R. C., & Shiffrin, R. M. (1968). Human memory: a proposed system and its control processes. *Psychology of Learning and Motivation, 2*, 89–195.
- Baddeley, A. (2000). The episodic buffer: a new component of working memory? *Trends in Cognitive Sciences, 4*(11), 417–423.
- Baddeley, A. D., & Hitch, G. (1974). *Working memory*.
- Bailey, C. H., Bartsch, D., & Kandel, E. R. (1996). *Toward a molecular definition of long-term memory storage* (93, Vol. 93).
- Barbanoj, M. J., Riba, J., Clos, S., Giménez, S., Grasa, E., & Romero, S. (2008). Daytime Ayahuasca administration modulates REM and slow-wave sleep in healthy volunteers. *Psychopharmacology, 196*(2), 315–326.

- Barnes, N. M., & Sharp, T. (1999). A review of central 5-HT receptors and their function. In *Neuropharmacology* (Vol. 38). *
- Bayley, P. J., & Squire, L. R. (2005). Failure to acquire new semantic knowledge in patients with large medial temporal lobe lesions. *Hippocampus*, *15*(2), 273–280.
- Bendor, D., & Wilson, M. A. (2012). Biasing the content of hippocampal replay during sleep. *Nature Neuroscience*, *15*(10), 1439–1444.
- Bertram, E. H., Williamson, J. M., Cornett, J. F., Spradlin, S., & Chen, Z. F. (1997). Design and construction of a long-term continuous video-EEG monitoring unit for simultaneous recording of multiple small animals. In *Brain Research Protocols* (Vol. 2).
- Binder, J. R., & Desai, R. H. (2011). The neurobiology of semantic memory. In *Trends in Cognitive Sciences* (Vol. 15, Issue 11, pp. 527–536). *
- Binder, S., Baier, P. C., Mölle, M., Inostroza, M., Born, J., & Marshall, L. (2012). Sleep enhances memory consolidation in the hippocampus-dependent object-place recognition task in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, *97*(2), 213–219.
- Binder, S., Dere, E., & Zlomuzica, A. (2015). A critical appraisal of the what-where-when episodic-like memory test in rodents: Achievements, caveats and future directions. In *Progress in Neurobiology* (Vol. 130, pp. 71–85).
- Born, J., Rasch, B., & Gais, S. (2006). Sleep to remember. *Neuroscientist*, *12*(5), 410–424. *
- Buhot, M.-C., Martin, S., & Segu, L. (2000). Role of serotonin in memory impairment. *Annals of Medicine*, *32*(3), 210–221. *
- Buhot, M.-C., Patra, S. K., & Na'ili, S. (1995). Spatial memory deficits following stimulation of hippocampal 5-HT_{1B} receptors in the rat. In *European Journal of Pharmacology* (Vol. 285).
- Burwell, R. D. (2000). The Parahippocampal Region: Corticocortical Connectivity. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *911*(1), 25–42. *
- Buzsáki, G., & Moser, E. I. (2013). Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system. In *Nature Neuroscience* (Vol. 16, Issue 2, pp. 130–138). *
- Camina, E., & Güell, F. (2017). The neuroanatomical, neurophysiological and psychological basis of memory: Current models and their origins. In *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 8, Issue JUN). *

- Carhart-Harris, R. L., Bolstridge, M., Rucker, J., Day, C. M. J., Erritzoe, D., Kaelen, M., Bloomfield, M., Rickard, J. A., Forbes, B., Feilding, A., Taylor, D., Pilling, S., Curran, V. H., & Nutt, D. J. (2016). Psilocybin with psychological support for treatment-resistant depression: an open-label feasibility study. *The Lancet Psychiatry*, 3(7), 619–627.
- Carhart-Harris, R. L., & Goodwin, G. M. (2017). The Therapeutic Potential of Psychedelic Drugs: Past, Present, and Future. *Neuropsychopharmacology*, 42(11), 2105–2113. *
- Carskadon, M. A., & Dement, W. C. (2011). Normal Human Sleep: An Overview. In *Principles and practice of sleep medicine* (5th edition, pp. 16–26). *
- Carter, O. L., Burr, D. C., Pettigrew, J. D., Wallis, G. M., Hasler, F., & Vollenweider, F. X. (2005). Using Psilocybin to Investigate the Relationship between Attention, Working Memory, and the Serotonin 1A and 2A Receptors. *J Cogn Neurosci*, 17(10), 1497–1508.
- Catlow, B. J., Song, S., Paredes, D. A., Kirstein, C. L., & Sanchez-Ramos, J. (2013). Effects of psilocybin on hippocampal neurogenesis and extinction of trace fear conditioning. *Experimental Brain Research*, 228(4), 481–491.
- Celada, P., Victoria Puig, M., & Artigas, F. (2013). Serotonin modulation of cortical neurons and networks. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, APR 2013. *
- Charnay, Y., & Leger, L. (2010). Brain serotonergic circuitries. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 12(4), 471–487. *
- Chi, T., & Gold, J. A. (2020). A review of emerging therapeutic potential of psychedelic drugs in the treatment of psychiatric illnesses. In *Journal of the Neurological Sciences* (Vol. 411). Elsevier B.V. *
- Chowdhury, B., Abhilash, L., Ortega, A., Liu, S., & Shafer, O. (2023). Homeostatic control of deep sleep and molecular correlates of sleep pressure in *Drosophila*. *ELife*, 12.
- Cimadevilla, J. M., Kaminsky, Y., Fenton, A., & Bures, J. (2000). Passive and active place avoidance as a tool of spatial memory research in rats. In *Journal of Neuroscience Methods* (Vol. 102).
- Ciranna, L. (2006). Serotonin as a Modulator of Glutamate-and GABA-Mediated Neurotransmission: Implications in Physiological Functions and in Pathology. In *Current Neuropharmacology* (Vol. 4). *
- Clark, L., Cools, R., & Robbins, T. W. (2004). The neuropsychology of ventral prefrontal cortex: Decision-making and reversal learning. *Brain and Cognition*, 55(1), 41–53. *

- Cohen, H., & Barondes, S. H. (1966). Lack of Effect of a Highly Purified Yeast RNA Preparation on Maze Learning. *Psychopharmacologia*, 8, 375–378.
- Cohen, N., & Squire, L. (1980). Preserved learning and retention of pattern-analyzing skill in amnesia: dissociation of knowing how and knowing that. *Science*, 210(4466), 207–210.
- Colasanti, B., & Khazan, N. (1975). Electroencephalographic Studies on the Development of Tolerance and Cross Tolerance to Mescaline in the Rat. In *Psychopharmacologia (Berl.)* (Vol. 43).
- Colavito, V., Fabene, P. F., Grassi-Zucconi, G., Pifferi, F., Lamberty, Y., Bentivoglio, M., & Bertini, G. (2013). Experimental sleep deprivation as a tool to test memory deficits in rodents. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 7(106), 1–17. *
- Cools, R., Roberts, A. C., & Robbins, T. W. (2008). Serotonergic regulation of emotional and behavioural control processes. In *Trends in Cognitive Sciences* (Vol. 12, Issue 1, pp. 31–40). *
- Corkin, S. (2002). What's new with the amnesic patient H.M.? *Nature*, 3, 153–160.
- Davis, H. P., Squire, L. R., & Bennett, E. L. (1984). Protein Synthesis and Memory: A Review. *Psychological Bulletin*, 96(3), 518–559. *
- De Gennaro, L., Ferrara, M., & Bertini, M. (2001). EEG Arousals in Normal Sleep: Variations Induced by Total and Selective Slow-wave Sleep Deprivation. *Sleep*, 24(6), 673–679.
- Delatour, B., & Witter, M. P. (2002). Projections from the parahippocampal region to the prefrontal cortex in the rat: evidence of multiple pathways. *European Journal of Neuroscience*, 15, 1400–1407.
- Dement, W., & Kleitman, N. (1957). Cyclic variations in EEG during sleep and their relation to eye movements, body motility, and dreaming. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 9(4), 673–690.
- Dickerson, B. C., & Eichenbaum, H. (2010). The episodic memory system: Neurocircuitry and disorders. *Neuropsychopharmacology*, 35(1), 86–104. *
- Diekelmann, S., & Born, J. (2010). The memory function of sleep. *Nature Reviews Neuroscience*, 11(2), 114–126. *
- Dijk, D. J., Beersma, D. G. M., Daan, S., Bloem, G. M., & Van Den Hoofdakker', R. H. (1987). Quantitative Analysis of the Effects of Slow Wave Sleep Deprivation During the First 3 h of Sleep on Subsequent EEG Power Density. *Eur Arch Psychiatr Neurol Sci*, 236, 323–328.

- Dudai, Y. (2004). The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annual Review of Psychology*, 55, 51–86. *
- Dudysová, D., Janků, K., Šmotek, M., Saifutdinova, E., Kopřivová, J., Bušková, J., Mander, B. A., Brunovský, M., Zach, P., Korčák, J., Andrashko, V., Viktorinová, M., Tylš, F., Bravermanová, A., Froese, T., Páleníček, T., & Horáček, J. (2020). The Effects of Daytime Psilocybin Administration on Sleep: Implications for Antidepressant Action. *Frontiers in Pharmacology*, 11.
- Duncan, J., & Owen, A. M. (2000). Common regions of the human frontal lobe recruited by diverse cognitive demands. In *Trends Neurosci* (Vol. 23, Issue 10).
- Eichenbaum, H. (2000). *A cortical–hippocampal system for declarative memory*, 1, 41–50. *
- Eichenbaum, H., Yonelinas, A. R., & Ranganath, C. (2007). The Medial Temporal Lobe and Recognition Memory. *Annual Review of Neuroscience*, 30, 123–152.
- Eldele, E., Chen, Z., Liu, C., Wu, M., Kwoh, C. K., Li, X., & Guan, C. (2021). An Attention-Based Deep Learning Approach for Sleep Stage Classification with Single-Channel EEG. *IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering*, 29, 809–818.
- Ergorul, C., & Eichenbaum, H. (2004). The hippocampus and memory for “what,” “where,” and “when.” *Learning and Memory*, 11(4), 397–405.
- Esser, S. K., Hill, S. L., & Tononi, G. (2007). Sleep Homeostasis and Cortical Synchronization: I. Modeling the Effects of Synaptic Strength on Sleep Slow Waves. *SLEEP*, 30(12), 1617–1630.
- Evbayekha, E. O., Aiwuyo, H. O., Dilibe, A., Nriagu, B. N., Idowu, A. B., Eletta, R. Y., & Ohikhuai, E. E. (2022). Sleep Deprivation Is Associated With Increased Risk for Hypertensive Heart Disease: A Nationwide Population-Based Cohort Study. *Cureus*.
- Fedotova, Y. O., & Ordyan, N. E. (2010). Blockade of 5-HT 2A/2C-Type Receptors Impairs Learning in Female Rats in the Course of Estrous Cycle. In *Ekspperimental'noi Biologii i Meditsiny* (Vol. 149, Issue 7).
- Fenton, A. A., Wesierska, M., Kaminsky, Y. U., & Bures, J. (1998). Both here and there: Simultaneous expression of autonomous spatial memories in rats. In *Psychology* (Vol. 95).
- Flexner, J. B., Flexner, L. B., & Stellar, E. (1963). Memory in Mice as Affected by Intracerebral Puromycin. *Science, New Series*, 141(3575), 57–59.

- Fowler, M. J., Sullivan, M. J., & Ekstrand, B. R. (1973). Sleep and Memory. *Science*, *179*, 302–304.
- Frankland, P. W., & Bontempi, B. (2005). The organization of recent and remote memories. In *Nature Reviews Neuroscience* (Vol. 6, Issue 2, pp. 119–130). *
- Friedman, L., Bergmann, B. M., & Rechtschaffen, A. (1979). Effects of Sleep Deprivation on Sleepiness, Sleep Intensity, and Subsequent Sleep in the Rat. In *Sleep* (Vol. 1, Issue 4).
- Froese, T., Leenen, I., & Palenicek, T. (2018). A role for enhanced functions of sleep in psychedelic therapy? *Adaptive Behavior*, *26*(3), 129–135.
- Gainé, M. E., Bahl, E., Chatterjee, S., Michaelson, J. J., Abel, T., & Lyons, L. C. (2021). Altered hippocampal transcriptome dynamics following sleep deprivation. *Molecular Brain*, *14*(1), 1–17.
- Gais, S., Plihal, W., Wagner, U., & Born, J. (2000). Early sleep triggers memory for early visual discrimination skills. *Nature Neuroscience*, *3*(12), 1335–1339.
- Gardner, J. P. D., Fornal, C. A., & Jacobs, B. L. (1997). Effects of sleep deprivation on serotonergic neuronal activity in the dorsal raphe nucleus of the freely moving cat. *Neuropsychopharmacology*, *7*(2), 72–81.
- Gilmour, T. P., Fang, J., Guan, Z., & Subramanian, T. (2010). Manual rat sleep classification in principal component space. *Neuroscience Letters*, *469*(1), 97–101.
- Glennon, R. A., Titeler, M., & Mckenney, J. D. (1984). Evidence for 5-HT₂ involvement in the mechanism of action of hallucinogenic agents. *Life Sciences*, *35*, 2505–2511.
- Graf, P., & Schacter, D. L. (1985). Implicit and Explicit Memory for New Associations in Normal and Amnesic Subjects. *Journal of Experimental Psychology: Learning, Memory, and Cognition*, *3*, 501–518.
- Hamann, S. B., & Squire, L. R. (1997). Intact Perceptual Memory in the Absence of Conscious Memory. *Behavioral Neuroscience*, *110*(4), 850–854.
- Harvey, J. A. (2003). Role of the serotonin 5-HT_{2A} receptor learning. *Learning and Memory*, *10*(5), 355–362. *
- Hasler, F., Bourquin, D., Brenneisen, R., Bsr, T., & Vollenweider, F. X. (1997). Determination of psilocin and 4-hydroxyindole-3-acetic acid in plasma by HPLC-ECD and pharmacokinetic profiles of oral and intravenous psilocybin in man. In *Pharmaceutics Acta Helvetiae* (Vol. 72).

- Hasler, F., Grimberg, U., Benz, M. A., Huber, T., & Vollenweider, F. X. (2004). Acute psychological and physiological effects of psilocybin in healthy humans: A double-blind, placebo-controlled dose-effect study. *Psychopharmacology*, *172*(2), 145–156.
- Hasselbalch, S. G., Madsen, K., Svarer, C., Pinborg, L. H., Holm, S., Paulson, O. B., Waldemar, G., & Knudsen, G. M. (2008). Reduced 5-HT_{2A} receptor binding in patients with mild cognitive impairment. *Neurobiology of Aging*, *29*(12), 1830–1838.
- He, J., Hsueh, H., He, Y., Kastin, A. J., Wang, Y., & Pan, W. (2014). Sleep restriction impairs blood-brain barrier function. *Journal of Neuroscience*, *34*(44), 14697–14706.
- Hebb, D. (1949). *The Organization of Behavior; a neuropsychological theory*. (J. Wiley, Ed.; 1st ed.). John Wiley and Sons, Inc.
- Heiser, P., Dickhaus, B., Opper, C., Schreiber, W., Clement, H. W., Hasse, C., Hennig, J., Krieg, J. C., & Wesemann, W. (1997). Journal of Neural Transmission Platelet serotonin and interleukin-113 after sleep deprivation and recovery sleep in humans. In *J Neural Transm*, *104*, 1049–1058.
- Herremans, A. H. J., Hijzen, T. H., Olivier, B., & Slangen, J. L. (1995). Serotonergic drug effects on a delayed conditional discrimination task in the rat; involvement of the 5-HT_{1A} receptor in working memory. *Journal of Psychopharmacology*, *9*(3), 242–250.
- Horacek, J., Bubenikova-Valesova, V., Kopecek, M., Palenicek, T., Dockery, C., Mohr, P., & Höschl, C. (2006). *Mechanism of Action of Atypical Antipsychotic Drugs and the Neurobiology of Schizophrenia*.
- Horita, A., & Weber, L. J. (1961). The enzymatic dephosphorylation and oxidation of psilocybin and psilocin by mammalian tissue homogenates. *Biochemical Pharmacology*, *7*, 47–54.
- Hoyer, D., Clarke, D. E., Fozard, J. R., Hartig, P. R., Martin, G. R., Mylecharane, E. J., Saxena, P. R., & Humphrey, P. P. A. (1994). *VII. International Union of Pharmacology Classification of Receptors for 5-Hydroxytryptamine (Serotonin)*.
- Hoyer, D., Hannon, J. P., & Martin, G. R. (2001). *Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors*, *46*(2), 157–203. *
- Ishikawa, H., Yamada, K., Pavlides, C., & Ichitani, Y. (2014). Sleep deprivation impairs spontaneous object-place but not novel-object recognition in rats. *Neuroscience Letters*, *580*, 114–118.
- James, G. W. L., & Piper, D. C. (1978). A Method for Evaluating Potential Hypnotic Compounds In Rats. *Journal of Pharmacological Methods*, *1*(2), 145–155.

- Jenkins, J. G., & Dallenbach, K. M. (1924). Obliviscence during Sleep and Waking. *The American Journal of Psychology*, 35(4), 605–612.
- Jenkins, T. A., Nguyen, J. C. D., Polglaze, K. E., & Bertrand, P. P. (2016). Influence of tryptophan and serotonin on mood and cognition with a possible role of the gut-brain axis. In *Nutrients* (Vol. 8, Issue 1).
- Kandel, E. R. (1976). *Cellular basis of behavior: An introduction to behavioral neurobiology*. W. H. Freeman.
- Kay, D. C., & Martin, W. R. (1978). Association for the Psychophysiological Study of Sleep. In *Psychopharmacology* (Vol. 58).
- Kesner, R. P., Ravindranathan, A., Jackson, P., Giles, R., & Chiba, A. A. (2001). A neural circuit analysis of visual recognition memory: Role of perirhinal, medial, and lateral entorhinal cortex. *Learning and Memory*, 8(2), 87–95.
- Kiyono, S., Kawamoto, T., Sakakura, H., & Iwama, K. (1965). Effect of sleep deprivation upon the paradoxical phase of sleep in cats. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 19(1), 34–40.
- Klein, E., Hefez, A., & Lavie, P. (1984). Effects of Clomipramine Infusion on Sleep in Depressed Patients. *Neuropsychobiology*, 11, 85–88.
- Kloosterman, F., van Haeften, T., & Lopes da Silva, F. H. (2004). Two reentrant pathways in the hippocampal-entorhinal system. *Hippocampus*, 14(8), 1026–1039.
- Kocsis, B., Varga, V., Dahan, L., & Sik, A. (2006). Serotonergic neuron diversity: Identification of raphe neurons with discharges time-locked to the hippocampal theta rhythm. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103(4), 1059–1064.
- Kohyama, J. (2011). Sleep, serotonin, and suicide in Japan. *Journal of Physiological Anthropology*, 30(1), 1–8.
- Korman, M., Doyon, J., Doljansky, J., Carrier, J., Dagan, Y., & Karni, A. (2007). Daytime sleep condenses the time course of motor memory consolidation. *Nature Neuroscience*, 10(9), 1206–1213.
- Kramer, K., & Kinter, L. B. (2003). Evaluation and applications of radiotelemetry in small laboratory animals. *Physiological Genomics*, 13, 197–205.
- Lacroix, M. M., & Kanbi, K. El. (2018). *Improved sleep scoring in mice reveals human-like stages*. Preprint.
- Lambe, E. K., Goldman-Rakic, P. S., & Aghajanian, G. K. (2000). Serotonin induces EPSCs preferentially in layer V pyramidal neurons of the frontal cortex in the rat. *Cereb Cortex*, 10, 974–980.

- Lechner, H. A., Squire, L. R., Byrne, J. H., & Keck, W. M. (1999). 100 Years of Consolidation – Remembering Müller and Pilzecker. *LEARNING & MEMORY*, 6, 77–87.
- Leiser, S. C., Li, Y., Pehrson, A. L., Dale, E., Smagin, G., & Sanchez, C. (2015). Serotonergic Regulation of Prefrontal Cortical Circuitries Involved in Cognitive Processing: A Review of Individual 5-HT Receptor Mechanisms and Concerted Effects of 5-HT Receptors Exemplified by the Multimodal Antidepressant Vortioxetine. In *ACS Chemical Neuroscience* (Vol. 6, Issue 7, pp. 970–986). American Chemical Society.
- Liu, N., Sun, S., Wang, P., Sun, Y., Hu, Q., & Wang, X. (2021). The mechanism of secretion and metabolism of gut-derived 5-hydroxytryptamine. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 15).
- Lopez-Rodriguez, F., Kim, J., & Poland, R. E. (2004). Total sleep deprivation decreases immobility in the forced-swim test. *Neuropsychopharmacology*, 29(6), 1105–1111.
- Lundgaard, I., Li, B., Xie, L., Kang, H., Sanggaard, S., Haswell, J. D. R., Sun, W., Goldman, S., Blekot, S., Nielsen, M., Takano, T., Deane, R., & Nedergaard, M. (2015). Direct neuronal glucose uptake heralds activity-dependent increases in cerebral metabolism. *Nature Communications*, 6, 1–12.
- Ly, C., Greb, A. C., Cameron, L. P., Wong, J. M., Barragan, E. V., Wilson, P. C., Burbach, K. F., Soltanzadeh Zarandi, S., Sood, A., Paddy, M. R., Duim, W. C., Dennis, M. Y., McAllister, A. K., Ori-McKenney, K. M., Gray, J. A., & Olson, D. E. (2018). Psychedelics Promote Structural and Functional Neural Plasticity. *Cell Reports*, 23(11), 3170–3182.
- Lyons, L. C., Chatterjee, S., Vanrobaeys, Y., Gaine, M. E., & Abel, T. (2020). Translational changes induced by acute sleep deprivation uncovered by TRAP-Seq. *Molecular Brain*, 13(1).
- Marek, G. J., & Aghajanian, G. K. (1996). LSD and the phenethylamine hallucinogen DOI are potent partial agonists at 5-HT_{2A} receptors on interneurons in rat piriform cortex. *Pharmacol Exp Ther.*, 278(3), 1373–1382.
- Marnier, L., Frokjaer, V. G., Kalbitzer, J., Lehel, S., Madsen, K., Baaré, W. F. C., Knudsen, G. M., & Hasselbalch, S. G. (2012). Loss of serotonin 2A receptors exceeds loss of serotonergic projections in early Alzheimer’s disease: A combined [11C]DASB and [18F]altanserin-PET study. *Neurobiology of Aging*, 33(3), 479–487.

- Marshall, L., Helgadóttir, H., Mölle, M., & Born, J. (2006). Boosting slow oscillations during sleep potentiates memory. *Nature*, *444*, 610–613.
- Mashour, G. A., Lipinski, W. J., Matlen, L. B., Walker, A. J., Turner, A. M., Schoen, W., Lee, U., & Poe, G. R. (2010). Isoflurane anesthesia does not satisfy the homeostatic need for rapid eye movement sleep. *Anesthesia and Analgesia*, *110*(5), 1283–1289.
- Massart, R., Freyburger, M., Suderman, M., Paquet, J., El Helou, J., Belanger-Nelson, E., Rachalski, A., Koumar, O. C., Carrier, J., Szyf, M., & Mongrain, V. (2014). The genome-wide landscape of DNA methylation and hydroxymethylation in response to sleep deprivation impacts on synaptic plasticity genes. *Translational Psychiatry*, *4*.
- McCoy, J. G., & Strecker, R. E. (2011). The cognitive cost of sleep lost. *Neurobiology of Learning and Memory*, *96*(4), 564–582. *
- McGaugh, J. L. (2000). Memory - A century of consolidation. *Science*, *287*(5451), 248–251.
- Medlej, Y., Asdikian, R., Wadi, L., Salah, H., Dosh, L., Hashash, R., Karnib, N., Medlej, M., Darwish, H., Kobeissy, F., & Obeid, M. (2019). Enhanced setup for wired continuous long-term EEG monitoring in juvenile and adult rats: application for epilepsy and other disorders. *BMC Neuroscience*, *20*(1).
- Meerlo, P., Sgoifo, A., & Suchecki, D. (2008). Restricted and disrupted sleep: Effects on autonomic function, neuroendocrine stress systems and stress responsivity. In *Sleep Medicine Reviews*, *12*(3), 197–210.
- Meltzer, H. Y. (1999). The Role of Serotonin in Antipsychotic Drug Action. In *Neuropsychopharmacology* *21*(2S), 106S–115S.
- Monti, J. M., & Jantos, H. (2005). A study of the brain structures involved in the acute effects of fluoxetine on REM sleep in the rat. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *8*(1), 75–86.
- Monti, J. M., & Jantos, H. (2006). Effects of the serotonin 5-HT_{2A/2C} receptor agonist DOI and of the selective 5-HT_{2A} or 5-HT_{2C} receptor antagonists EMD 281014 and SB-243213, respectively, on sleep and waking in the rat. *European Journal of Pharmacology*, *553*(1–3), 163–170.
- Monti, J. M., Pandi Perumal, S. R., Warren Spence, D., & Torterolo, P. (2018). The involvement of 5-HT_{2A} receptor in the regulation of sleep and wakefulness, and the potential therapeutic use of selective 5-HT_{2A} receptor antagonists and inverse agonists for the treatment of an insomnia disorder. In *5-HT_{2A} Receptors in the Central Nervous System*, *32*, 311–337.

- Morairty, S. R., Hedley, L., Flores, J., Martin, R., & Kilduff, T. S. (2008). Selective 5HT_{2A} and 5HT₆ Receptor Antagonists Promote Sleep in Rats. *Sleep*, *31*(1), 34–44.
- Morris, R. G. M. (1981). Spatial Localization Does Not Require the Presence of Local Cues. In *LEARNING AND MOTIVATION* (Vol. 12).
- Muellbacher, W., Ziemann, U., Wissel, J., Dang, N., Kofler, M., Facchini, S., Boroojerdi, B., Poewe, W., & Hallett, M. (2002). Early consolidation in human primary motor cortex. *Nature*, *415*, 640–644.
- Nichols, D. E. (2004). Hallucinogens. *Pharmacology and Therapeutics*, *101*(2), 131–181.
- Nichols, D. E. (2016). Psychedelics. *Pharmacological Reviews*, *68*(2), 264–355.
- Nichols, D. E., & Nichols, C. D. (2008). Serotonin receptors. *Chemical Reviews*, *108*(5), 1614–1641. *
- Nikolič, M., Viktorin, V., Zach, P., Tylš, F., Dudysová, D., Janků, K., Kopřivová, J., Kuchař, M., Brunovský, M., Horáček, J., & Páleníček, T. (2023). Psilocybin intoxication did not affect daytime or sleep-related declarative memory consolidation in a small sample exploratory analysis. *European Neuropsychopharmacology*, *74*, 78–88.
- O’Keefe, J., & Dostrovsky, J. (1971). The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Research*, *34*(1), 171–175.
- O’Keefe, John., & Nadel, L. (1978). *The hippocampus as a cognitive map*. Clarendon Press.
- Olivier, B. (2015). Serotonin: A never-ending story. In *European Journal of Pharmacology*, *753*, 2–18. *
- Olton, D. S., & Samuelson, R. J. (1976). *Remembrance of Places Passed: Spatial Memory in Rats*, *2*(2), 97–116.
- Packard, M. G., & McGaugh, J. L. (1996). Inactivation of Hippocampus or Caudate Nucleus with Lidocaine Differentially Affects Expression of Place and Response Learning. In *NEUROBIOLOGY OF LEARNING AND MEMORY*, *65*, 65–72.
- Palchykova, S., Winsky-Sommerer, R., Meerlo, P., Dürr, R., & Tobler, I. (2006). Sleep deprivation impairs object recognition in mice. *Neurobiology of Learning and Memory*, *85*(3), 263–271.
- Peigneux, P., Laureys, S., Fuchs, S., Destrebecqz, A., Collette, F., Delbeuck, X., Phillips, C., Aerts, J., Fiore, G. del, Degueldre, C., Luxen, A., Cleeremans, A., & Maquet, P. (2003). Learned material content and acquisition level modulate cerebral reactivation during posttraining rapid-eye-movements sleep. *Neuroimage*, *20*(1), 125–134.

- Phelps, E. A., & LeDoux, J. E. (2005). Contributions of the Amygdala to Emotion Processing: From Animal Models to Human Behavior. *Neuron*, *48*(2), 175–187.
- Pires, G. N., Bezerra, A. G., Tufik, S., & Andersen, M. L. (2016). Effects of acute sleep deprivation on state anxiety levels: a systematic review and meta-analysis. In *Sleep Medicine* (Vol. 24, pp. 109–118).
- Plihal, W., & Born, J. (1997). Effects of Early and Late Nocturnal Sleep on Declarative and Procedural Memory. *Journal of Cognitive Neuroscience*, *9*(4), 534–547.
- Popa, D., Léna, C., Fabre, V., Prenat, C., Gingrich, J., Escourrou, P., Hamon, M., & Adrien, J. (2005). Contribution of 5-HT₂ receptor subtypes to sleep-wakefulness and respiratory control, and functional adaptations in knock-out mice lacking 5-HT_{2A} receptors. *Journal of Neuroscience*, *25*(49), 11231–11238.
- Porter, R. J., Lunn, B. S., & O'Brien, J. T. (2003). Effects of acute tryptophan depletion on cognitive function in Alzheimer's disease and in the healthy elderly. *Psychological Medicine*, *33*(1), 41–49
- Prévot, E., Maudhuit, C., Le Poul, E., Hamon, M., & Adrien, J. (1996). Sleep deprivation reduces the citalopram-induced inhibition of serotonergic neuronal firing in the nucleus raphe dorsalis of the rat. *J Sleep Res*, *5*(4), 238–245.
- Qian, Y., Cao, Y., Deng, B., Yang, G., Li, J., Xu, R., Zhang, D., Huang, J., & Rao, Y. (2017). Sleep homeostasis regulated by 5HT_{2b} receptor in a small subset of neurons in the dorsal fan-shaped body of drosophila. *Elife*, *6*.
- Rambousek, L., Palenicek, T., Vales, K., & Stuchlik, A. (2014). The effect of psilocin on memory acquisition, retrieval, and consolidation in the rat. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *8*(180), 1–7.
- Rasch, B., & Born, J. (2013). About Sleep's Role in Memory. *Physiol Rev*, *93*, 681–766.
*
- Raval, N. R., Johansen, A., Donovan, L. L., Ros, N. F., Ozenne, B., Hansen, H. D., & Knudsen, G. M. (2021). A single dose of psilocybin increases synaptic density and decreases 5-HT_{2A} receptor density in the pig brain. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(2), 1–14.
- Rayan, A., Agarwal, A., Samanta, A., Severijnen, E., van der Meij, J., & Genzel, L. (2022). Sleep scoring in rodents: Criteria, automatic approaches and outstanding issues. *European Journal of Neuroscience*, 1–28. *
- Rechtschaffen, A., & Bergmann, B. M. (1995). Sleep deprivation in the rat by the disk-over-water method. In *Behavioural Brain Research*, *69*, 55–63.

- Rechtschaffen, A., Bergmann, B. M., Everson, C. A., Kushida, C. A., & Gilliland, M. A. (1989). Sleep Deprivation in the Rat: I. Conceptual Issues. *Sleep, 12*(1), 1–4.
- Riedel, W. J., Klaassen, T., Nicolaas, Deutz, E. P., Van Someren, A., & Van Praag, H. M. (1999). Tryptophan depletion in normal volunteers produces selective impairment in memory consolidation. In *Psychopharmacology*, 141, 362–369.
- Riemann, D., Krone, L. B., Wulff, K., & Nissen, C. (2020). Sleep, insomnia, and depression. *Neuropsychopharmacology, 45*(1), 74–89. *
- Roman, V., Hagewoud, R., Luiten, P., & Meerlo, P. (2006). Differential effects of chronic partial sleep deprivation and stress on serotonin-1A and muscarinic acetylcholine receptor sensitivity. *J Sleep Res, 15*(4), 386–394.
- Russell, W. M. S., & Burch, R. L. (1959). Principles of Humane Experimental Technique. *Medical Journal of Australia, 1*(13), 500–500.
- Saper, C. B., Fuller, P. M., Pedersen, N. P., Lu, J., & Scammell, T. E. (2010). Sleep State Switching. *Neuron, 68*(6), 1023–1042.
- Saygin, M., Ozguner, M. F., Onder, O., Doguc, D. K., Ilhan, I., & Peker, Y. (2017). The impact of sleep deprivation on hippocampal-mediated learning and memory in rats. *Bratislava Medical Journal, 118*(7), 408–416.
- Schmid, Y., Enzler, F., Gasser, P., Grouzmann, E., Preller, K. H., Vollenweider, F. X., Brenneisen, R., Müller, F., Borgwardt, S., & Liechti, M. E. (2015). Acute effects of lysergic acid diethylamide in healthy subjects. *Biological Psychiatry, 78*(8), 544–553.
- Schmitt, J., Wingen, M., Ramaekers, J., Evers, E., & Riedel, W. (2006). Serotonin and Human Cognitive Performance. *Current Pharmaceutical Design, 12*(20), 2473–2486.
- Scoville, W. B., & Milner, B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat, 20*(11), 11–21.
- Semon, R. W. (1921). *The Mneme* (Library). Cornell University Press.
- Senthilvelan, M., Ravindran, R., Samson, J., & Devi, R. S. (2006). Serotonin turnover in discrete regions of young rat brain after 24 h REM sleep deprivation. *Neurochemical Research, 31*(1), 81–84.
- Shadmehr, R., & Holcomb, H. H. (1997). Neural Correlates of Motor Memory Consolidation. *New Series, 277*(5327), 821–825.
- Siegel, J. M. (2001). The REM sleep-memory consolidation hypothesis. In *Science* (Vol. 294, Issue 5544, pp. 1058–1063).

- Simasko, S. M., & Mukherjee, S. (2009). Novel analysis of sleep patterns in rats separates periods of vigilance cycling from long-duration wake events. *Behavioural Brain Research, 196*(2), 228–236.
- Simon, L. S. (1999). *Role and Regulation of Cyclooxygenase-2 During Inflammation*.
- Simor, P., van der Wijk, G., Nobili, L., & Peigneux, P. (2020). The microstructure of REM sleep: Why phasic and tonic? In *Sleep Medicine Reviews, 52*, 1–12. *
- Smeraldi, E., Benedetti, F., Barbini, B., Campori, E., & Colombo, C. (1999). Sustained Antidepressant Effect of Sleep Deprivation Combined with Pindolol in Bipolar Depression A Placebo-Controlled Trial. *Neuropsychopharmacology, 20*(4), 380–385.
- Smith, C. (1995). Sleep states and memory processes. *Behavioural Brain Research, 69*, 137–145.
- Squire, L. R. (2004). Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. *Neurobiology of Learning and Memory, 82*(3), 171–177. *
- Squire, L. R., Genzel, L., Wixted, J. T., & Morris, R. G. (2015). Memory Consolidation. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, 1–22.
- Steffenach, H. A., Witter, M., Moser, M. B., & Moser, E. I. (2005). Spatial memory in the rat requires the dorsolateral band of the entorhinal cortex. *Neuron, 45*(2), 301–313.
- Stefurak, S. J., Stefurak, M. L., Mendelson J Christian Gillin, W. B., Jed Wyatt, R., Stefurak, M. L., Mendelson, W. B., Gillin, J. C., & Wyatt, R. J. (1977). A Method for Sleep Depriving Rats A method for sleep depriving rats. *Pharmacology Biochemistry & Behavior, 6*, 137–139.
- Stein, C., Davidowa, H., & Albrecht, D. (2000). 5-HT_{1A} Receptor-Mediated Inhibition and 5-HT₂ As Well As 5-HT₃ Receptor-Mediated Excitation in Different Subdivisions of the Rat Amygdala. *Synapse, 38*, 328–337.
- Stenberg, D. (2007). Neuroanatomy and neurochemistry of sleep. In *Cellular and Molecular Life Sciences* (Vol. 64, Issue 10, pp. 1187–1204).
- Strassman, R. J., Peake, G. T., Qualls, C. R., & Jonathan Lisansky, E. (1988). Lack of an Acute Modulatory Effect of Melatonin on Human Nocturnal Thyrotropin and Cortisol Secretion. In *Neuroendocrinology, 48*, 387–393.
- Stuchlik, A., Rehakova, L., Telensky, P., & Vales, K. (2007). Morris water maze learning in Long-Evans rats is differentially affected by blockade of D₁-like and D₂-like dopamine receptors. *Neuroscience Letters, 422*(3), 169–174.

- Suzuki, W. A. (1996). Neuroanatomy of the monkey entorhinal, perirhinal and parahippocampal cortices: Organization of cortical inputs and interconnections with amygdala and striatum. *Seminars in Neuroscience*, 8(1), 3–12.
- Suzuki, W. A., & Amara, D. G. (1994). Topographic Organization of the Reciprocal Connections between the Monkey Entorhinal Cortex and the Perirhinal and Parahippocampal Cortices. *The Journal of Neuroscience*, 74(3), 1856–1877.
- Tarokh, L., Rusterholz, T., Achermann, P., & Van Dongen, H. P. A. (2015). The spectrum of the non-rapid eye movement sleep electroencephalogram following total sleep deprivation is trait-like. *Journal of Sleep Research*, 24(4), 360–363.
- Thomas, C. W., Blanco-Duque, C., Bréant, B. J., Goodwin, G. M., Sharp, T., Bannerman, D. M., & Vyazovskiy, V. V. (2022). Psilocin acutely alters sleep-wake architecture and cortical brain activity in laboratory mice. *Translational Psychiatry*, 12(1).
- Thrane, V. R., Thrane, A. S., Plog, B. A., Thiagarajan, M., Iliff, J. J., Deane, R., Nagelhus, E. A., & Nedergaard, M. (2013). Paravascular microcirculation facilitates rapid lipid transport and astrocyte signaling in the brain. *Scientific Reports*, 3(2582), 1–5.
- Timo-Iaria, C., Negrão, N., Schmidek, W. R., Hoshino, K., de Menezes, C. E. L., & da Rocha, T. L. (1970). Phases and states of sleep in the rat. *Physiology & Behavior*, 5(9), 1057–1062.
- Tolman, E. C. (1948). *The psychological review - Cognitive maps in rats and men*, 55(4), 189–208. *
- Tononi, G., & Cirelli, C. (2003). Sleep and synaptic homeostasis: a hypothesis. *Brain Research Bulletin*, 62, 143–150.
- Tononi, G., & Cirelli, C. (2014). Sleep and the Price of Plasticity: From Synaptic and Cellular Homeostasis to Memory Consolidation and Integration. *Neuron*, 81(1), 12–34.
- Torrado Pacheco, A., Olson, R. J., Garza, G., & Moghaddam, B. (2023). Acute psilocybin enhances cognitive flexibility in rats. *Neuropsychopharmacology*, 48(7), 1011–1020.
- Tulving, E., & Donaldson, W. (1972). Episodic and semantic memory. In *Organization of memory* (pp. 382–392). Academic Press.
- Tylš, F., Páleníček, T., & Horáček, J. (2014). Psilocybin - Summary of knowledge and new perspectives. In *European Neuropsychopharmacology*, 24(3), 342–356. *
- Vanover, K. E., & Davis, R. E. (2010). Role of 5-HT 2A receptor antagonists in the treatment of insomnia. *Nature and Science of Sleep*, 2–139.

- Ventouras, E. M., Ktonas, P. Y., Tsekou, H., Paparrigopoulos, T., Kalatzis, I., & Soldatos, C. R. (2010). Independent component analysis for source localization of EEG sleep spindle components. *Computational Intelligence and Neuroscience*, 2010.
- Versijpt, J., Van Laere, K. J., Dumont, F., Decoo, D., Vandecapelle, M., Santens, P., Goethals, I., Audenaert, K., Slegers, G., Dierckx, R. A., & Korf, J. (2003). Imaging of the 5-HT 2A system: age-, gender-, and Alzheimer's disease-related findings. In *Neurobiology of Aging*, 24, 553–561.
- Vollenweider, F. X., & Kometer, M. (2010). The neurobiology of psychedelic drugs: Implications for the treatment of mood disorders. In *Nature Reviews Neuroscience*, 11(9), 642–651.
- Vollenweider, F. X., Vollenweider-Scherpenhuyzen, M. F. I., Bäbler, A., Vogel, H., & Hell, D. (1998). *Psilocybin induces schizophrenia-like psychosis in humans via a serotonin-2 agonist action*, 1–8.
- Vollenweider, F. X., Vontobel, P., Hell, D., & Leenders, K. L. (1999). 5-HT Modulation of Dopamine Release in Basal Ganglia in Psilocybin-Induced Psychosis in Man-A PET Study with [11C]raclopride. In *Neuropsychopharmacology*, 20(5), 424–433.
- Vorhees, C. V., & Williams, M. T. (2024). Tests for learning and memory in rodent regulatory studies. *Current Research in Toxicology*, 6.
- Walsh, C. M., Booth, V., & Poe, G. R. (2011). Spatial and reversal learning in the Morris water maze are largely resistant to six hours of REM sleep deprivation following training. *Learning and Memory*, 18(7), 422–434.
- Wang, W., Yin, H., Sun, G., Zhang, J., Sun, J., Mbabazi, N., Zou, L., Li, B., Lin, P., Pei, Q., Wang, X., Wang, P., Ji, X., Qu, X., & Yin, D. (2023). The Role of Sleep Deprivation in Arrhythmias. In *Cardiovascular Innovations and Applications*, 7(5) 1–7. *
- Wilson, M. A., & McNaughton, B. L. (1994). Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep. *Science*, 265(5172), 676–679.
- Wilson, S., & Argyropoulos, S. (2005). Antidepressants and Sleep. *Drugs*, 65(7), 927–947.
- Wiltgen, B. J., Zhou, M., Cai, Y., Balaji, J., Karlsson, M. G., Parivash, S. N., Li, W., & Silva, A. J. (2010). The hippocampus plays a selective role in the retrieval of detailed contextual memories. *Current Biology*, 20(15), 1336–1344.

- Wu, J., Zhou, Q., Li, J., Chen, Y., Shao, S., & Xiao, Y. (2021). Decreased resting-state alpha-band activation and functional connectivity after sleep deprivation. *Scientific Reports*, *11*(1).
- Xie, L., Kang, H., Xu, Q., Chen, M. J., Liao, Y., Thiyagarajan, M., O'donnell, J., Christensen, D. J., Nicholson, C., Iliff, J. J., Takano, T., Deane, R., & Nedergaard, M. (2013). Sleep Drives Metabolite Clearance from the Adult Brain. *Science*, *342*(6156), 373–377.
- Yang, R. H., Hu, S. J., Wang, Y., Zhang, W. Bin, Luo, W. J., & Chen, J. Y. (2008). Paradoxical sleep deprivation impairs spatial learning and affects membrane excitability and mitochondrial protein in the hippocampus. *Brain Research*, *1230*, 224–232.
- Yaroush, R., Sullivan, M. J., & Ekstrand, B. R. (1971). Effect of sleep on memory. II: Differential effect of the first and second half of the night. In *Journal of Experimental Psychology*, *88*(3), 361–366.
- Zhang, B., Hao, Y., Jia, F., Tang, Y., Li, X., Liu, W., & Arnulf, I. (2013). Sertraline and rapid eye movement sleep without atonia: An 8-week, open-label study of depressed patients. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *47*, 85–92.
- Zhang, G., Cinalli, D., & Stackman, R. W. (2017). Effect of a hallucinogenic serotonin 5-HT_{2A} receptor agonist on visually guided, hippocampal-dependent spatial cognition in C57BL/6J mice. *Hippocampus*, *27*(5), 558–569.
- Zhang, G., Sgeirsdóttir, H. N., Cohen, S. J., Munchow, A. H., Barrera, M. P., & Stackman, R. W. (2013). Stimulation of serotonin 2A receptors facilitates consolidation and extinction of fear memory in C57BL/6J mice. *Neuropharmacology*, *64*, 403–413.
- Zhang, G., & Stackman, R. W. (2015). The role of serotonin 5-HT_{2A} receptors in memory and cognition. In *Frontiers in Pharmacology*, *6*(225), –17. *