

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Adéla Grieblová

Cirkadiánní regulace spánku během ontogeneze člověka
Circadian Regulation of Sleep During Ontogenesis in Humans

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Vedoucí bakalářské práce: PharmDr. Alena Sumová, DSc.

Praha, 2014

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucí své práce PharmDr. Aleně Sumové, DSc. za velkou míru trpělivosti a ochoty, kterou prokázala.

Prohlašuji, že jsem svou bakalářskou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 16.5.2014

Podpis

ABSTRAKT

Cirkadiánní systém se vyvinul jako systém umožňující přizpůsobit se periodicky se měnícím podmínkám na Zemi. U savců, a tedy i u člověka, je cirkadiánní systém složen z centrálního a periferních oscilátorů generujících cirkadiánní rytmus. Jedním z nejvýraznějších procesů s cirkadiánním rytmem je cyklus spánku a bdění. Spánek je regulován součinností cirkadiánního a homeostatického procesu. Cirkadiánní regulace spánku se během ontogeneze člověka mění. Změny se týkají hlavně chronotypu, tedy diurnálních preferencí k době spánku a aktivity v určitou denní dobu. V prvních letech života je typický ranní chronotyp. Koncem první dekády života se cirkadiánní fáze začíná opožďovat a během adolescence dosahuje maximálního zpoždění. V dospělosti se preference znovu mění směrem k rannímu chronotypu a ve stáří dosahují extrémního ranního chronotypu. Změny v cirkadiánní regulaci spánku během ontogeneze jsou v některých obdobích života závislé také na pohlaví.

Klíčová slova: Cirkadiánní rytmus, Chronotyp, Ontogeneze, Spánek, Suprachiasmatická jádra.

ABSTRACT

The circadian system has evolved as an adaptation to periodically changing conditions on Earth. In mammals, and therefore in humans, the circadian system consists of the central and peripheral oscillators generating a circadian rhythm. One of the most significant process exhibiting circadian rhythm is the sleep-wake cycle. Sleep is regulated by cooperation of circadian and homeostatic process. There are changes in circadian regulation of sleep during ontogenesis in human. The changes mainly relate to chronotype, i.e., to the diurnal preferences of activity and sleep. In the first years of life, there is a typical morning chronotype. In the end of first decade of life, the circadian phase begins to delay and reaches its maximal eveningness during adolescence. In adulthood, the preference changes again toward morning chronotype and reaches extreme morningness in elderly. Changes in circadian regulation of sleep during ontogenesis depend not only on age, but also on sex.

Keywords: Circadian rhythm, Chronotype, Ontogenesis, Sleep, Suprachiasmatic nuclei.

Obsah

1	Úvod	1
2	Cirkadiánní systém	2
2.1	Suprachiasmatická jádra	2
2.2	Periferní oscilátory	5
2.3	Hodinové geny	6
2.4	Melatonin	7
2.5	Ontogeneze cirkadiánního systému	7
3	Spánek	9
3.1	Dvouprocesový model regulace spánku	10
3.2	Non-rapid eye movement spánek	11
3.3	Rapid eye movement spánek	12
3.4	Mechanismus cirkadiánní regulace spánku	13
3.5	Metodika měření cikadiánního rytmu spánku a bdění	13
3.6	Chronotyp	14
4	Vliv faktorů vnějšího prostředí na cirkadiánní regulaci spánku	16
5	Cirkadiánní regulace spánku v průběhu ontogeneze	18
5.1	Ranně postnatální a kojenecký věk	18
5.2	Batoletčí věk	19
5.3	Předškolní a mladší školní věk	20
5.4	Adolescence	21
5.5	Dospělí	22
6	Závěr	25
7	Použitá literatura	26

1 Úvod

Cirkadiánní systém (z latinského *circa* - přibližně, *diem* - den) se vyvinul jako adaptace na cyklické změny způsobené rotací Země kolem své osy. Cirkadiánní rytmy jsou rytmy s periodou přibližně 24 hodin. Cirkadiánní rytmus vykazuje řada fyziologických procesů v organismu. Cirkadiánní systém savců je složen z centrálního a periferních oscilátorů. Centrálním oscilátorem jsou suprachiasmatická jádra (SCN) uložená v anteriorním hypothalamu. SCN přijímají podněty z prostředí, na jejichž základě seřizují endogenní periodu vzhledem k denní době (Klein *et al.*, 1991). Takové podněty se nazývají Zeitgebers (z německého Zeit geben - udávat čas). Nejzásadnějším Zeitgeberem je světlo, dalšími pak např. příjem potravy či sociální podněty. Další funkcí SCN je synchronizace částečně autonomních periferních oscilátorů mezi sebou navzájem (Balsalobre *et al.*, 1998).

Nejvýraznějším projevem cirkadiánního rytmu u člověka je cyklus spánku a bdění (S/B). Spánek je regulován vzájemnou interakcí cirkadiánního a homeostatického procesu. Cirkadiánní regulace spánku není během ontogeneze neměnná, ale dochází ke změnám v závislosti na věku a od určitého věku dochází k odlišnostem i v rámci pohlaví.

2 Cirkadiánní systém

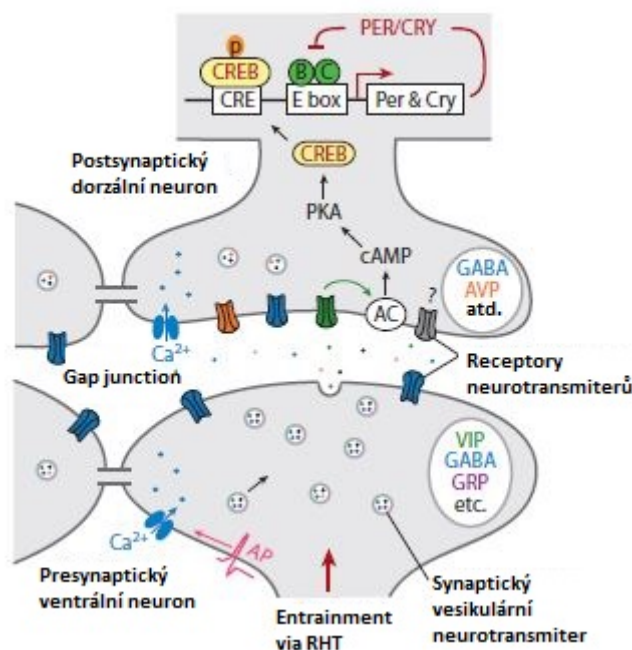
Centrálním oscilátorem, neboli pacemakerem, cirkadiánního systému savců jsou suprachiasmatická jádra hypothalamu (SCN). SCN jsou jako jediné oscilátory přímo spojena s retinou. Mohou tak přijímat informace o světle, které je seřizuje. (Klein *et al.*, 1991). Další oscilátory, tzv. periferní, se nacházejí v dalších částech mozku a také v různých tkáních a orgánech těla. Jednotlivé oscilátory jsou do jisté míry autonomní, jsou ovšem synchronizovány nejen vůči sobě navzájem, ale i vzhledem k denní době, což je úlohou SCN (Balsalobre *et al.*, 1998). Cirkadiánní systém je tedy hierarchicky uspořádán a pro jeho správné fungování je nutné zachování správných fázových vztahů mezi jednotlivými složkami.

2.1 Suprachiasmatická jádra

Suprachiasmatická jádra jsou párové struktury neuronů v předním hypothalamu, přímo nad překřížením optických nervů, *chiasma opticum* (Klein *et al.*, 1991). U člověka jsou SCN umístěna v bazální části anteriorního hypothalamu (Braak & Braak, 1992). SCN je rozdělena na dvě hlavní anatomické a funkční podjednotky - ventrální „jádro“ (z angl. core) a dorzální „obal“ (z angl. shell). Jádro SCN je tvořeno neurony produkujícími vazoaktivní intestinální peptid (VIP) a gastrin-releasing peptid (GRP) a je cílem aferentních drah (viz dále), obal SCN tvoří populace neuronů obsahující arginin-vasopresin (AVP) (Moore *et al.*, 2002; Dai *et al.*, 1997). Neurony obalu přijímají četné projekce z jádra, naopak je tomu pouze zřídka (Abrahamson & Moore, 2001; Leak *et al.*, 1999). Většina neuronů SCN obsahuje jako neurotransmiter inhibiční kyselinu γ -aminomáslenou (GABA) (Gao *et al.*, 1995).

SCN jsou složena z individuálních neuronů, které *in vitro* v disperzní kultuře generují vlastní cirkadiánní rytmus (Welsh *et al.*, 1995). Jednotlivé buňky jsou mezi sebou organizovaně propojené a vzájemně se synchronizují, což je nutné pro vykazování synchronní rytmicity SCN jako celku. Mechanismem synchronizace je generování akčních potenciálů jednotlivými neurony SCN (Yamaguchi *et al.*, 2003). Při oddělení ventrální a dorzální části *in vitro* vykazuje dorzální SCN spontánní rytmus s kratší periodou, než neurony ventrálního SCN. Rytmus ventrálního SCN se více blíží původní periodě rytmu neporušeného SCN. To by korespondovalo s tvrzením, že projekce probíhá ve směru z jádra do obalu a ne naopak (Leak *et al.*, 1999) a oscilace neuronů dorzálního SCN by tedy mohla být laděna díky neuronům jádra SCN (Noguchi *et al.*, 2004).

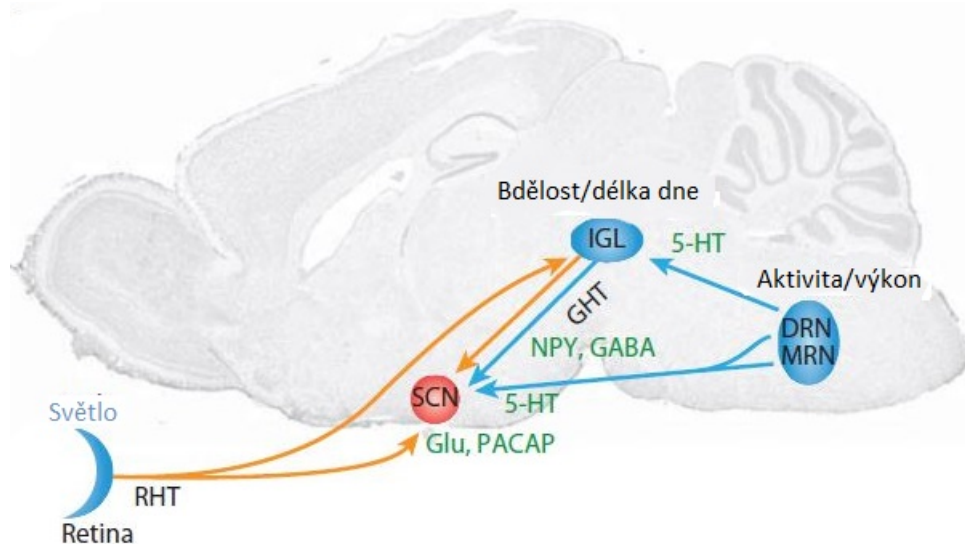
Stěžejní roli v synchronizaci neuronů SCN má neuropeptid VIP specifický pro ventrální SCN. Vazbou na receptor VPAC2 postsynaptického neuronu zvýší aktivitu adenylyl cyklázy (AC), což vede k nárůstu cyklického AMP (cAMP) a PKA (Vaněček & Watanabe, 1998). V důsledku toho dochází k fosforylaci cAMP response-element binding (CREB) a dalších transkripčních faktorů, které aktivují expresi hodinového genu *Per1* (Nielsen *et al.*, 2002), viz obrázek 1. Aktivací receptorů GRP a GABA prostřednictvím GRP a GABA dochází k navození fázového posunu oscilace SCN a rytmů lokomoční aktivity (Piggins *et al.*, 1995; Liu & Reppert, 2000)



Obrázek 1: Schématický diagram intracelulární signalizace v rámci SCN. Akční potenciály šířící se na terminálních synapsích neuronů ventrálního SCN navozují uvolnění GABA a neuropeptidů jako VIP nebo GRP. VIP se váže na postsynaptický VPAC2 receptor na neuronu dorzálního SCN, to vede k depolarizaci membrány, zvýšení hladiny vápníku a cAMP, fosforylaci CREB a indukcí transkripce *Per* a *Cry*, tedy ke změně fáze a amplitudy intracelulárního oscilátoru. AC, adenylyl cykláza; AVP, arginin-vasopresin; B, BMAL; C, CLOCK; cAMP, cyklický adenosin monofosfát; CRE, cAMP response element; CREB, cAMP response-element binding; Cry, Cryptochrom; GABA, kyselina γ -aminomáslená; GRP, gastrin-releasing peptid; *Per*, *Period*; PKA, proteinkináza A; RHT, retinohypothalamický trakt; VIP, vazoaktivní intestinální peptid; VPAC2, receptor pro VIP. Welsh *et al.*, 2010.

K neuronům SCN vedou tři hlavní aferentní dráhy, přinášející informaci o změně prostředí, a to jak světelných tak i nesvětelných. Jedná se o retinohypothalamický trakt (RHT), genikulohypothalamický trakt (GHT) a dráhu z *raphe nuclei*. RHT je dráha spojující SCN přímo s retinou, která je zásadní pro světelnou synchronizaci SCN. Světelná informace je vedena axony

fotosenzitivních retinálních gangliových buněk (photosensitive retinal ganglial cells, pRGCs). PRGCs obsahují fotosenzitivní protein melanopsin, který slouží jako cirkadiánní fotoreceptorová molekula (Berson *et al.*, 2002). Aferentní neurony RHT jsou u člověka zakončeny převážně ve ventrálním SCN, kde tvoří synapse s VIP neurony (Hofman, 2000). Z axonů neuronů RHT je uvolňován excitační neurotransmitter glutamát (Ebling, 1996) a kontrasmitemer neuropeptid aktivující hypofyzární adenylát cyklázu (pituitary adenylate cyclase-activating protein, PACAP) (Hannibal *et al.*, 1997). Světelná informace je z retiny vedena i do IGL v thalamu (Johnson *et al.*, 1988 podle Kornhauser *et al.*, 1996), kde dochází k integraci světelné informace s informací nesvětelnou, která přichází do IGL z dorzálního *raphe nuclei* (Meyer-Bernstein & Morin, 1996). Hlavní neurotransmitter GHT, který vede informaci do jádra SCN, je inhibiční GABA a kotransmitter neuropeptid Y (NPY) (Maywood *et al.*, 1997). Dalším aferentním vstupem SCN je trakt vedoucí z dorzálního a mediálního raphe nuclei (Leander *et al.*, 1998). Mediátorem je serotonin (5-HT). Serotoninové vstupy se pravděpodobně podílejí na nesvětelné regulaci SCN a seřizování cirkadiánních hodin. Tato dráha zřejmě moduluje odpověď na světelné signály (přehled van Esseveldt *et al.*, 2000). Viz obrázek 2.



Obrázek 2: Hlavní aferentní dráhy SCN savců. Oranžově je zobrazen světelný vstup, modře nonfotické vstupy SCN. 5-HT, serotonin; DRN, dorzální raphe nucleus; GABA, kyselina γ -aminomáselná; GHT, genikulohypothalamický trakt; Glu, glutamát; IGL, intergenikulární lístek; MRN, mediální raphe nuclei; NPY, neuropeptid Y; PACAP, neuropeptid aktivující hypofyzární adenylát cyklázu; RHT, retinohypothalamický trakt; SCN, suprachiasmatická jádra. Dibner *et al.*, 2010.

Axony pRGCs uvolňují po světelné stimulaci glutamát a neuropeptid PACAP do oblasti synapsí ventrálního SCN (Hannibal *et al.*, 1997). PACAP je kotransmitterem glutamátu a zvyšuje jeho

efekt (Michel *et al.*, 2006). Jejich uvolnění a navázání na receptory neuronů SCN vede k aktivaci signálních drah (přehled Gillette, 1996) a následně nárůstu transkripce specifických hodinových genů (viz kapitola 2.3) (Shigeyoshi *et al.*, 1997). Konkrétně se glutamát váže na AMPA a NMDA receptory, čímž dojde k depolarizaci membrány a vtoku kationtů Ca^{2+} . (Meijer & Schwartz, 2003). Následuje aktivace sítě protein-kináz (PK) - kalcium/kalmodulin-depcentní PK (CaMK), mitogen-aktivovaná PK (MAPK), proteinkinázy A (PKA) - a tím fosforylace CREB proteinu (Carlezon *et al.*, 2005). CREB indukuje vazbou na promotor exprese *Per* a dalších genů (Nielsen *et al.*, 2002). Tak je CREB schopný indukovat transkripci *Per* během subjektivní noci a tím způsobit fázový posun (Trávníčková-Bendová *et al.*, 2002).

Výstupní dráhy vedou z SCN převážně do dalších oblastí hypothalamu, preoptické oblasti, bazálního prosencefalonu a thalamu (Morin & Allen, 2006). Jedna z důležitých eferentních drah vede z jádra SCN do subparaventriculární zóny hypothalamu (sPVZ). V důsledku poškození ventrálního sPVZ dochází, stejně jako při poškození SCN, ke ztrátě cirkadiánní rytmicity u cyklu S/B (Lu *et al.*, 2000). Ze sPVZ dále pokračuje dráha do dorzomediálního jádra hypothalamu (DMH) a odtud GABAergními neurony do ventrolaterálního preoptického jádra (VLPO) a glutaminergními a thyrotropin-releasing hormon neurony do laterálního hypothalamu (Chou *et al.*, 2003). Tato dráha je důležitá pro regulaci bdělosti (viz kapitola 3). SCN regulují vnitřní tělesnou teplotu (CBT), spánek (Dijk & Czeisler, 1995) či aktivaci hypothalamo-hypofyzární osy.

2.2 Periferní oscilátory

Kromě SCN obsahují autonomní cirkadiánní oscilátory i další buňky a tkáně. V mozku jsou jimi např. další jádra hypothalamu, prosencephalon, bulbus olfactorius, epifýza (Abe *et al.*, 2002; Amir *et al.*, 2004; Granados-fuentes *et al.*, 2004). Periferní oscilátory jsou však kromě neuronální tkáně přítomny i v jiných tkáních a orgánech, jako jsou např. játra, ledviny, slezina, slinivka, tlusté střevo, kosterní svalstvo, krevní buňky a další (Balsalobre *et al.*, 1998; Yamazaki *et al.*, 2000; Yoo *et al.*, 2004). Periferní oscilátory jsou soběstačné, jsou schopné autonomních oscilací a v *ex vivo* podmínkách, tj. bez účasti SCN, vykazují cirkadiánní rytmy (Yoo *et al.*, 2004). Funkce SCN je tedy spíše synchronizovat periferní oscilátory mezi sebou navzájem, než řídit cirkadiánní rytmus v jednotlivých buňkách těchto tkání (Guo *et al.*, 2006). Periferní oscilátory jsou synchronizovány také signály (tzv. Zeitgebers) nezávislými na SCN, jako je

např. příjem potravy. Změna doby v příjmu potravy posouvá fázi exprese hodinových genů v jaterní tkáni, přestože světelný cyklus zůstává zachován (Damiola *et al.*, 2000).

2.3 Hodinové geny

Mechanismus, jakým cirkadiánní oscilátory generují rytmický signál, je autonomní a spočívá v autoregulačních transkripčně-translačních zpětnovazebných smyčkách. Jaderné geny *Clock* a *Bmal1* kódují proteiny CLOCK a BMAL1, které patří mezi transkripční faktory (Gekakis *et al.*, 1998; Bunger *et al.*, 2000). K expresi *Clock* dochází v průběhu celého dne, exprese *Bmal1* dosahuje vrcholu během cirkadiánní noci (Maywood *et al.*, 2003). Také u člověka vykazují geny pro PER1, PER2, PER3, BMAL1 a CRY1 změnu v expresi v závislosti na denní době (Ando *et al.*, 2009; Bjarnason *et al.*, 2001). Rytmická exprese *hPer* (*h* - zkratka *human*) dosahuje vrcholu brzy ráno, pro *hCry1* pozdě odpoledne a pro *hBmal1* v noci, *hClock* je, stejně jako u animálních modelů, nerytmická (Bjarnason *et al.*, 2001).

CLOCK a BMAL1 tvoří v cytoplazmě heterodimer CLOCK:BMAL1 a dochází k jeho translokaci do jádra, kde působí jako transkripční faktor pro různé geny navázáním na E-box elementy jejich promotorů. Tímto mechanismem zahajují i transkripci hodinových genů *Period* (*Per1,2,3*) a *Cryptochrom* (*Cry1,2*) (Gekakis *et al.*, 1998; Bunger *et al.*, 2000). Po transkripci, translaci a posttranslační modifikaci tvoří proteiny CRY a PER heterodimerní komplexy a translokují se do jádra. Zde přímo inhibují aktivitu CLOCK:BMAL1 komplexu, čímž nepřímo snižují hladiny RNA genů *Per* a *Cry* (Jin *et al.*, 1999). Tím je smyčka uzavřena, během noci opět *Bmal1* dosahuje maxima a cyklus se opakuje. Na regulaci rytmické exprese genu *Bmal1* se podílí další hodinové geny, především *Rev-erb α* (Preitner *et al.*, 2002) a *Rora* (Sato *et al.*, 2004), které jsou - stejně jako *Per* a *Cry* - aktivovány navázáním CLOCK:BMAL1 na E-box element promotoru. REV-ERB α a RORA kompetují o specifický receptor RORE (retinoid orphan nuclear receptor element) na *Bmal1*. Při navázání RORA dojde k aktivaci transkripce (Sato *et al.*, 2004), pokud se naváže REV-ERB α , dojde k inhibici transkripce (Preitner *et al.*, 2002), a tím tedy i inhibici transkripce *Rev-erb α* . Dalším regulačním faktorem je kasein kináza I ϵ (CKI ϵ). CKI ϵ fosforyluje PER proteiny a připravuje je tak k degradaci a tedy snížení jejich koncentrace, BMAL1 a CRY fosforyluje pouze v přítomnosti PER. Mutace CKI ϵ , která způsobuje hypofunkci, vede ke zkrácení periody cirkadiánního rytmu (Akashi *et al.*, 2002).

2.4 Melatonin

Melatonin je hormon tvořený především epifýzou (Lerner *et al.*, 1958). Sekundárními zdroji jsou retina, střevo, kostní dřev, krevní destičky a kůže, kde má pouze lokální účinek (Slominski *et al.*, 2002). Melatonin se vyplavuje z epifýzy za tmy, vystavení světlu během noci potlačí jeho vyplavování (Lewy *et al.*, 1980 podle Arendt, 2006). Hladina melatoninu dosahuje svého maxima v době, kdy vnitřní teplota těla (CBT), bdělost a výkonnost klesají na minimum (Rajaratnam & Arendt, 2001). Melatonin hraje roli v regulaci spánku. Při exogenním podání melatoninu mimo dobu jeho přirozené produkce stoupá ospalost a prodlužuje se doba spánku (Sharkey *et al.*, 2001).

Produkce endogenního melatoninu je regulována SCN prostřednictvím autonomního nervového systému. Výstup z SCN směřující do epifýzy vede přes paraventriculární jádro (PVN) a spinální míchu a cervikální ganglion (Moore, 1996). Syntéza melatoninu v epifýze probíhá následovně: pinealocyty vychytávají tryptofan z krve, dochází k jeho hydroxylaci a dekarboxylaci a tím k přeměně na serotonin. Následuje přeměna serotoninu na N-acetyl-serotonin N-acetyl-transferázou, která je limitujícím enzymem syntézy melatoninu. N-acetyl-serotonin je methylován enzymem hydroxyindol-O-methyl transferázou za vzniku melatoninu (Axelrod, 1974). Melatonin se váže na receptory spřažené s G-proteiny, značené MT1 a MT2 (nové značení receptorů Mel1a a Mel1b), které se nacházejí mimojiné na neuronech SCN a díky nim je melatonin důležitým humorálním vstupem SCN (Reppert *et al.*, 1995). Vzhledem k tomu, že je produkce epifyzárního melatoninu regulována cirkadiálními hodinami v SCN, je melatonin vhodným hormonem pro studium cirkadiálních rytmů.

2.5 Ontogeneze cirkadiálního systému

Cirkadiální systém podléhá prenatálnímu i postnatálnímu vývoji. Neurogeneze SCN je sice kompletní již v prenatálním období, avšak k morfologické maturaci dochází až postnatálně (Moore, 1991). Periferní oscilátory se vyvíjejí se zpožděním vůči SCN a jejich vývoj je tkáňově specifický (přehled Sumová *et al.*, 2008). Pro savčí modely platí, že v prenatálním období jsou v buňkách SCN přítomné transkripty hodinových genů. Nejsou ovšem pozorovány proteinové produkty hodinových genů, které jsou nezbytné pro funkci molekulárních hodin (Sládek *et al.*, 2004). V pozdně prenatálním období je možné pozorovat náznak formující se rytmicity exprese hodinových genů, ale amplituda rytmu je malá nebo nedosahuje signifikantní úrovně

(Kováčiková *et al.*, 2006). Z tohoto důvodu je stále diskutována funkčnost SCN v prenatálním období. Důležitou součástí vývoje SCN je synaptogeneze neuronů. Bez vytvoření neuronální sítě by SCN nebyla schopna generovat jednotný rytmus. Synaptogeneze prudce vzrůstá v raném postnatálním období (Moore & Bernstein, 1989). Se synaptogenezí stoupá i amplituda exprese hodinových genů. Jejich rytmicita odpovídá rytmicitě dospělých jedinců, až když je spojení plně vyvinuto (Kováčiková *et al.*, 2006). Nejde tedy jen o funkci jednotlivých buněk vytvářet oscilace, ale i o hierarchickou organizaci jader (Sumová *et al.*, 2008).

3 Spánek

Spánek je charakterizován jako reverzibilní behaviorální stav se sníženým vnímáním a nízkou reaktivitou na okolí, resp. zvýšeným prahem reaktivity na sensorické podněty. Obvykle (ale ne nutně) je doprovázen zavřenými očima, strnulostí těla a behaviorálním útlumem. Během spánku probíhá mnoho fyziologických a behaviorálních procesů. Spánek je možné monitorovat metodou polysomnografie, při které je během spánku hodnoceno více fyziologických funkcí, jako např. dechová frekvence, krevní tlak, svalová aktivita a další. Výstupem měření je polysomnogram. Základními polysomnografickými měřeními jsou elektrookulogram (EOG), elektromyogram (EMG) a elektroencefalogram (EEG). EOG je výstupem měření pohybů očí a EMG je záznam svalové aktivity (Carskadon & Dement, 2011). EEG je záznam změny bioelektrické aktivity nervových buněk centrální nervové soustavy (CNS) v průběhu času. V EEG záznamu se hodnotí především frekvence a amplituda vln (Speckmann & Elger, 2005). Kritéria pro jednotlivé rytmy vycházející ze záznamu EEG stanovil Rechtschaffen & Kales (1968). Definovány jsou následovně podle frekvence: alfa vlny jsou vlny s frekvencí 8 Hz - 12 Hz, sigma vlny 12 - 5 Hz, theta vlny 4 Hz - 7 Hz, delta vlny 0,5 Hz - 4 Hz, beta 15 a více Hz.

Spánek probíhá ve dvou oddělených stádiích, které se během spánku opakují v cyklech, tzv. „non-rapid eye movement (NREM)“ (v překladu spánek bez rychlých pohybů očí), a „rapid eye movement (REM)“ (v překladu spánek s rychlými pohyby očí). NREM spánek se poměrně nově dělí na 3 stádia, místo původních 4 stádií - N1, N2, N3 (Iber *et al.*, 2007). Stadium N3 (sloučení stádia 3 a stadia 4 původního dělení podle Rechtschaffen & Kales, 1968) se jinak nazývá spánek pomalých vln (slow wave sleep, SWS). Spánková epizoda začíná u zdravého dospělého člověka stádiem N1, následuje N2 a N3 a poté nastupuje REM. První NREM - REM cyklus trvá přibližně 70 - 100 min, další cykly se prodlužují zhruba na 90 - 120 min. NREM spánek tvoří 75 - 80% celkové doby spánku, REM zbývajících 20 - 25% (Carskadon & Dement, 2011). S postupem trvání spánkové epizody se zvyšuje podíl REM spánku v jednotlivých cyklech, v NREM spánku převažuje stadium N2 a stádium N3 někdy zcela vymizí (Colten & Altevogt, 2006).

Pro řízení a regulaci spánku jsou nezbytné oblasti hypothalamu, mozkového kmene a předního mozku (Saper *et al.*, 2005b). Přejít mezi bdělým stavem a spánkem je založen na tzv. flip-flop přepínání. To je založeno na systému, kdy je organismus buď ve stavu bdělosti nebo stavu spánku, ale nevyskytuje se přechodné stádium. Zodpovídá za to vzájemná inhibice aktivity cen-

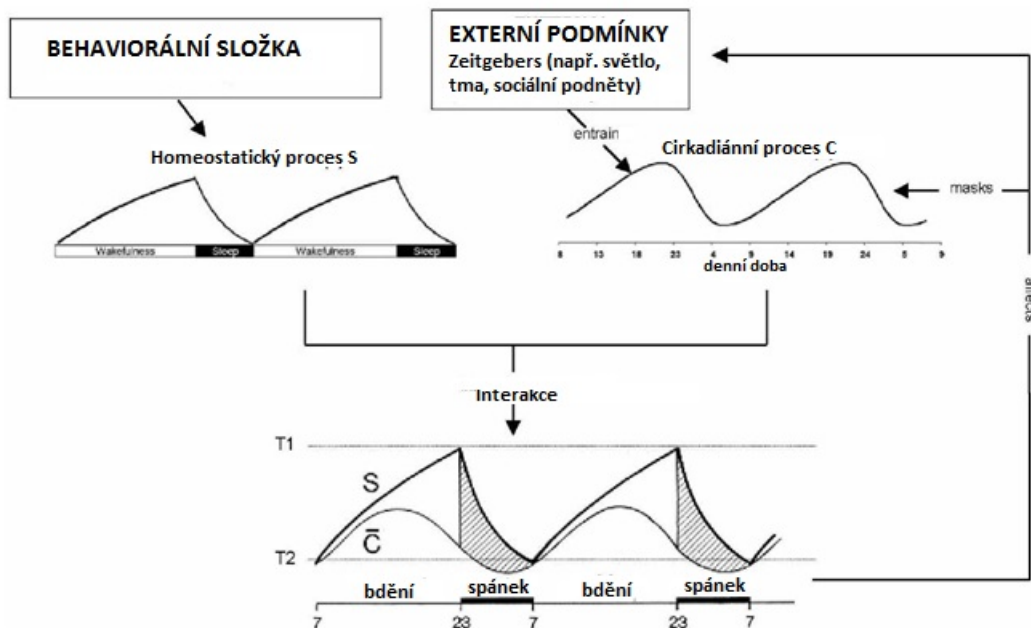
ter generujících bdělost a spánek (Saper *et al.*, 2001). S přibývajícím věkem dochází k oslabení vzájemných inhibic a fragmentaci spánku v noci a ospalosti či dřímání během dne (Saper *et al.*, 2005b).

3.1 Dvouprocesový model regulace spánku

Na počátku 80. let 20. století navrhl Borbély (1982) dvouprocesový model řízení spánku. Model uvažuje dva základní procesy řízení cyklu S/Bí - proces homeostatický (Proces S) a proces cirkadiánní (Proces C) a jejich vzájemnou interakci, díky níž lze předpovídat načasování spánku a probuzení. Proces S je definován jako spánek-navozující homeostatický proces, který kontinuálně stoupá s dobou strávenou v bdělém stavu. Závisí tedy na bezprostřední spánkové historii, přičemž s prodlužující se dobou bdělosti homeostatická potřeba spánku stoupá a naopak během spánku klesá. Proces S je spojen zejména s NREM SWS spánkem (Daan *et al.*, 1984).

Proces C reprezentuje cirkadiánní pacemaker s periodou přibližně 24 h. Křivka procesu C zobrazuje oscilační kolísání cirkadiánního pacemakeru (Borbély, 1982 podle Van Dongen & Dinges, 2003). Proces C je relativně nezávislý na spánkové historii (Borbély & Achermann, 1999). Cirkadiánní systém je často definován jako bdělost navozující systém, kdy působí proti procesu S (Rogers *et al.*, 2003). Proces C dosahuje maxima několik hodin před usnutím (tzn. před dosažením T1, viz obrázek 3), kdy působí proti zvyšující se homeostatické potřebě spánku a brání tak předčasnému usnutí v brzkých večerních hodinách. Takový stav je označován jako „forbidden zone for sleep“ - zakázaná zóna pro spánek - nebo „wake maintenance zone“ - zóna udržování bdění (Wyatt *et al.*, 1999). Během noci je udržován proces C na nízkých hodnotách, cirkadiánní tlak na spánek je tedy vysoký a brání předčasnému probuzení. Bez tohoto tlaku by docházelo, vzhledem ke snižujícím se tendencím homeostatické regulace spánku, k předčasnému probouzení a fragmentaci spánku (Dijk & Czeisler, 1994 podle Dijk *et al.*, 1999).

Dalším faktorem zahrnutým do modelu je tzv. maskující působení „masking effect“. Je to vliv podmínek vnějšího prostředí, který může do jisté míry měnit či skrývat cirkadiánní rytmus. Může jím být například fyzická a sociální aktivita nebo útlum, stres, okolní teplota, příjem některých látek jako např. kofein, methamfetamin a podobně (Goel *et al.*, 2013)



Obrázek 3: Borbélyho dvouprocesový model regulace spánku. Tendence vedoucí ke spánku, znázorněná homeostatickým procesem S, vzrůstá během doby strávené v bdělém stavu a klesá během spánku. Dva prahy ($T1$ a $T2$) vymezující S jsou modulovány cirkadiálním procesem (C). Cirkadiální pacemaker laděn („entrains“) pomocí externích Zeitgebers generuje či synchronizuje různé fyziologické oscilace. Schmidt et al., 2007, model modifikován podle Borbély, 1982 a Daan et al., 1984.

3.2 Non-rapid eye movement spánek

NREM spánek je charakterizován minimální mentální aktivitou a aktivní mozkovou regulací. Tělo je schopné pohybu, např. převalování se. Jak bylo zmíněno výše, NREM se dále dělí na stádia N1, N2 a N3 (SWS) (Kalia, 2006).

Stádium N1 je důležité v souvislosti s přechodem z bdělého stavu do prvního cyklus spánku (vyjímaje novorozence a narkoleptiky). Lze jej snadno přerušit rušivými zvuky. Během přechodu z bdělého stavu se na EEG objevují alfa vlny, které jsou specifické pro bdělý relaxovaný stav. S prodlužující se dobou trvání N1 nastupují vlny s nízkým napětím s různou frekvencí, mohou se objevit theta vlny (Carskadon & Rechtschaffen, 2000). N1 trvá obvykle 1 - 7 minut. .

Další stádium N2 trvá v prvním cyklu 10 - 25 min, s každým dalším cyklem se jeho doba trvání prodlužuje, nakonec zabírá 45 - 55 % celé spánkové epizody. K probuzení je třeba silnějšího stimulu než u N1. Během N2 jsou vlny EEG nízkonapět'ové se smíšenou frekvencí, specifický je výskyt spánkových vřeten a K-komplexů. Spánková vřetena jsou rychlé vlny s frekvencí nejčastěji 12 - 14 Hz (sigma vlny) s dobou trvání delší než 0,5 s, K-komplex je ostrá negativní vlna následovaná pozitivní složkou s dobou trvání delší než 0,5 s (Carskadon & Rechtschaffen,

2000).

Pro N3 (či SWS) platí, že EEG vykazuje vzrůstající aktivitu pomalých delta vln s vysokým napětím s frekvencí 0,5 - 4 Hz (Carskadon & Dement, 2011).

NREM spánek je regulován skrze ventrolaterální preoptické jádro (VLPO), jehož eferentní dráhy míří do bdělost-navozujících center v laterálním hypothalamu, bazálním prosencefalonu a mozkovém kmeni. Neurony VLPO jsou aktivní během noci, kdy z terminálních synapsí uvolňují inhibiční GABA a galanin (Sherin *et al.*, 1996) a potlačují tak aktivitu orexinových neuronů laterálního hypothalamu (Sakurai *et al.*, 2005), které jsou zásadní pro stabilizaci bdělého stavu (Burlet *et al.*, 2002) a dalších bdělost-navozujících např. monoaminergních tuberomamilárních neuronů (Sherin *et al.*, 1998). VLPO jsou kontrolovány stejnými oblastmi, které inhibují (Chou *et al.*, 2002). Při poškození VLPO dochází ke značnému úbytku NREM spánku ve spánkových epizodách (Lu *et al.*, 2000). Další oblastí hypothalamu, která ovlivňuje NREM je MnPO. Neurony MnPO tako používají jako neurotransmitter GABA a vysílají signály do obdobných míst jako neurony VLPO. Na rozdíl od VLPO, který vysílá kontinuální výboje, aktivita MnPO je na vrcholu v časných stádiích cyklu během NREM a poté postupně klesá (Suntsova *et al.*, 2002)). Neurony MnPO jsou metabolicky aktivovány při spánkové deprivaci, což naznačuje, že jsou součástí homeostatického systému regulace spánku (Gvilia *et al.*, 2006). Dalším homeostatickým regulátorem NREM spánku je adenosin. Adenosin se během bdění hromadí v mozku jako jeden z produktů energetického metabolismu a jeho hladina roste během spánkové deprivace a následně klesá během SWS (Porkka-Heiskanen *et al.*, 1997). V bazálním prosencefalonu se adenosin váže na A1 receptory, čímž dochází ke snížení signalizace navozující bdění vedoucí do kortexu (Strecker *et al.*, 2000). Adenosin vážící se na A2 receptory ve VLPO indukuje spánek (Scammell *et al.*, 2001).

3.3 Rapid eye movement spánek

Charakteristickým rysem REM spánku jsou epizody rychlých pohybů očí, svalová ochablost přeušovaná svalovými záškuby a značná mentální aktivita spojená se sněním. Na EEG se objevují vlny se smíšenou frekvencí, theta vlny, nízkofrekvenční alfa vlny a pilovité vlny (Carskadon & Rechtschaffen, 2000) Mimo jiné je REM spánek spojen s přerušením termoregulace, nepravidelným dýcháním a tepovou frekvencí (Kalia, 2006).

Přechod z REM fáze do NREM fáze a naopak je také regulován „flip-flop“ přepínáním. Ob-

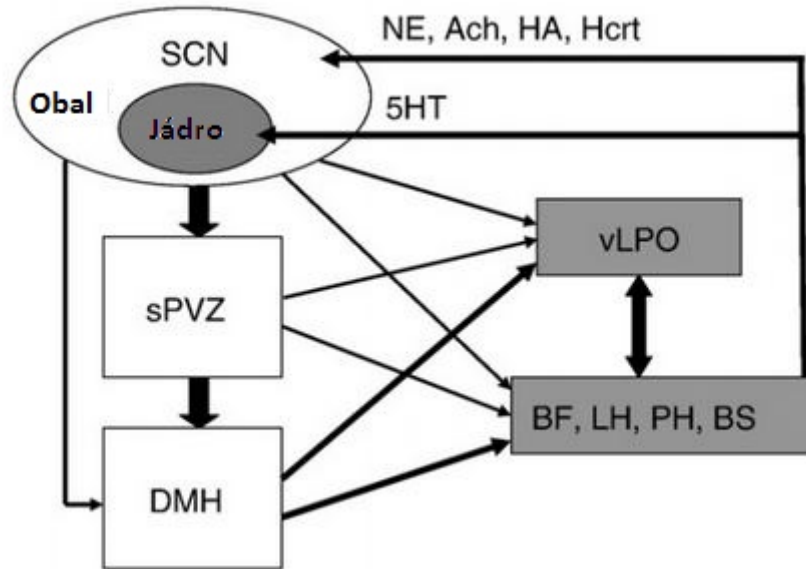
lasti GABAergních neuronů regulující REM spánek se nazývají REM-on a REM-off oblasti (Lu *et al.*, 2006). Oblast REM-off neuronů se nachází v částech tkáně dorzálního mesopontinu (*mesopontin tegmentum*) - ve ventrolaterální části periaqueductální šedé hmoty a laterálního pontinního tegmenta (Lu *et al.*, 2006; Sastre *et al.*, 1996). Eferentní dráhy REM-off vedou do REM-on oblastí v sublaterodorsálním jádru (SLD) a periventrikulární šedé hmotě (Lu *et al.*, 2006). Ventrální SLD je zodpovědné za svalovou atonii během REM spánku kvůli přímé glutaminergní projekci do interneuronů, které následně pomocí GABA a glycinu inhibují spinální motorické neurony (Chase *et al.*, 1989). Orexinové neurony mají excitační vliv na REM-off neurony, posilují jejich účinek, což brání výskytu REM během bdělosti (Saper *et al.*, 2005b). Neurony prodlouženého VLPO (eVLPO) naopak inhibují REM-off oblasti během spánku (Lu *et al.*, 2002).

3.4 Mechanismus cirkadiánní regulace spánku

Z SCN vede eferentní dráha SCN vede do subparaventrikulární zóny (sPVZ) (Lu *et al.*, 2001) a dále do dorzomediálních jader hypothalamu (DMH) (Chou *et al.*, 2003). Neuronální signály jsou odtud vysílány do spánek-navozujících neuronů VLPO a eVLPO a bdění-navozujících neuronů v bazálním prosencefalonu (BF), laterálním hypothalamu (LH), posteriorním hypothalamu (PH) a mozkovém kmeni (BS) (Saper *et al.*, 2005b). Tyto oblasti neuronů spolu interagují a vymezují tak stav spánku či bdění (Saper *et al.*, 2001). Hlavní bdění-navozující oblasti projíždí zpět do SCN a to buď do „jádra“ SCN serotoninovou cestou (Leander *et al.*, 1998) nebo do „obalu“ SCN prostřednictvím norepinefrinu (NE) z BS, acetylcholinu (Ach) z BF, histaminu (HA) z PH a orexinu z LH (Sakurai *et al.*, 2005). Z cirkadiánního pacemakeru je tedy přiváděn signál o načasování do oblastí navozujících spánek nebo bdění a zároveň je funkce SCN modulována signály souvisejícími s regulací bdění. Viz obrázek 4.

3.5 Metodika měření cirkadiánního rytmu spánku a bdění

Jednou z metod měření cirkadiánního rytmu B/S je aktigrafie. Při aktigrafickém monitoringu nosí subjekty na ruce přístroj obdobný hodinkám (v případě malých dětí je umístěn na noze), který snímá fyzickou aktivitu a monitoruje cyklus aktivity a klidu. Metoda je vhodná ke sledo-



Obrázek 4: Struktury a cesty propojující regulaci cirkadiánní a spánek a bdění. Slabými čarami jsou znázorněny méně robustní eferentní projekce. 5HT, serotonin; Ach, acetylcholin; BF, bazální prosencefalon; BS, mozkový kmen; DMH, dorzomidiální hypothalamus; HA, histamin; Hcr, orexin; LH, laterální hypothalamus; NE, neorepinefrin; PH, posteriorní hypothalamus; sPVZ, subparaventriculární zóna; vLPO, vetrolaterální preoptické jádro. Popis v textu. Rosenwasser, 2009.

vání spánku u novorozenců a dětí, u kterých není možný výzkum ve spánkových laboratořích, viz např. Harrison, 2004.

Další možností měření je metoda nucené desynchronizace. Nucená desynchronizace odhaluje vliv cirkadiánní regulace spánku. Sledované osoby jsou vystaveny světelným podmínkám měnícím se s periodou odlišnou od 24 h a je zjišťována schopnost adaptace na zkrácenou či prodlouženou periodu. Nutný je pobyt ve spánkové laboratoři, aby byl potlačen vliv okolí s přirozenou denní periodou, viz např. Silva *et al.*, 2010.

Další metodou je tzv. „constant routine“. Tato metoda se používá k odhalení endogenní rytmicity fyziologických procesů. Při vyšetření pobývá subjekt ve spánkové laboratoři, kde jsou udržovány konstantní podmínky (stálá teplota, osvětlení apod.). Tak se eliminuje vliv Zeitgebers a dochází k odhalení endogenní rytmicity, viz např. Duffy *et al.*, 1998.

3.6 Chronotyp

Načasování cirkadiánní rytmicity je individuální a podle preference jedinců k době spánku a aktivity v určitou denní dobu rozdělujeme tři chronotypy: ranní typ, střední typ, večerní typ. Ranní typy brzo uléhají a brzy vstávají a vrchol jejich mentální a fyzické aktivity je v ranních a do-

poledních hodinách. Oproti tomu večerní typy jsou nejvíce produktivní ve večerních hodinách a (pokud je to možné) později vstávají (přehled Adan *et al.* 2012). Diurnální preference souvisí s polymorfismem v genu *Per3*. Konkrétně záleží na délce tandemových repeticí, kdy kratší alela genu *Per3* souvisí s večerní preferencí a delší varianta genu s ranní preferencí (Archer *et al.*, 2003).

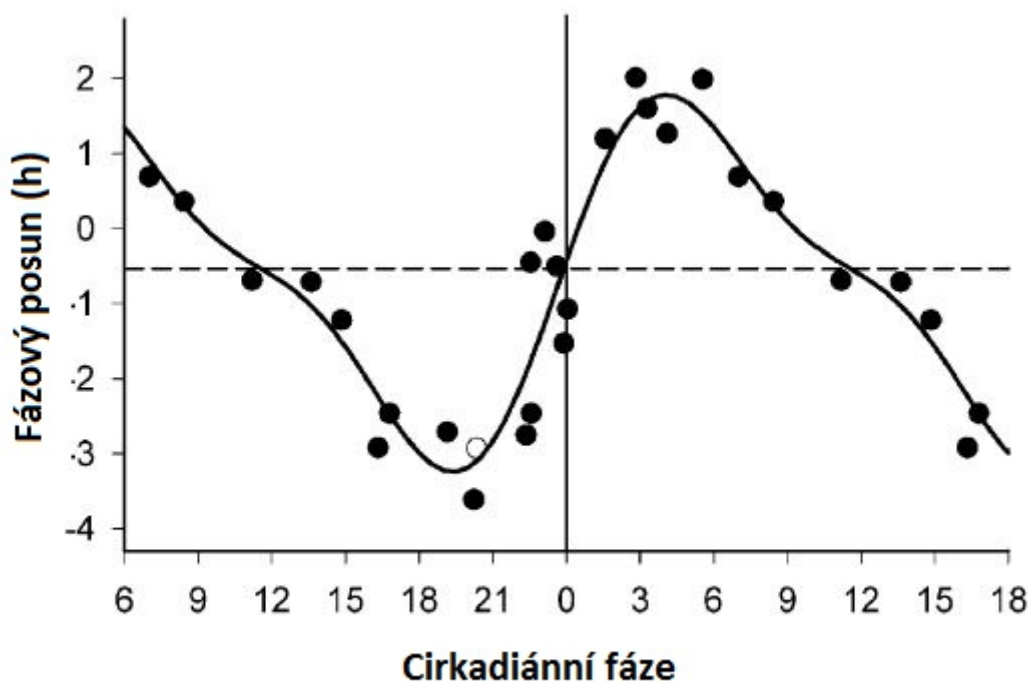
Preference se v různých etapách života mění a cirkadiánní fáze se posunuje. Obvykle se u dětí vyskytuje ranní chronotyp, který se v průběhu vývoje postupně opožďuje, maximálního opožďení dosahuje kolem 20. roku a s přibývajícím věkem se opět přibližuje rannímu chronotypu. Muži jsou oproti ženám spíše večerními typy (Roenneberg *et al.*, 2004), viz kapitola 5.4 a 5.5.

4 Vliv faktorů vnějšího prostředí na cirkadiánní regulaci spánku

Cirkadiánní rytmicita může být ovlivněna vnějšími podmínkami působícími na organismus. Nejvýznamnějším faktorem je působení světla na cirkadiánní systém. Vystavení světlu na konci subjektivního dne a na začátku subjektivní noci (před dosažením minima CBT) cirkadiánní rytmus opoždí uje. Naopak jasné světlo ke konci subjektivní noci (po dosažení minima CBT) vede k předběhnutí cirkadiánního rytmu (Khalsa *et al.*, 2003). Takový posun se znázorňuje pomocí křivky fázové odpovědi (PRC, phase response curve). PRC znázorňuje odpověď endogenního rytmu na působení vnějšího stimulu v podobě fázového posunu. Přítomnost fázového posunu a jeho směr se odvíjí na době jeho působení, viz obrázek 5 (Khalsa *et al.*, 2003). Fázové posuny mohou být vyvolány i světlem s nižší intenzitou (Wright *et al.*, 2001).

K fázovým posunům dochází také např. při práci na směny. Tento režim vede k desynchronizaci časového systému s denní dobou a také k desynchronizaci mezi centrálním a periferními oscilátory uvnitř těla (Arendt, 2010). Tento stav způsobuje mnoho fyziologických a psychologických zdravotních problémů. Patří mezi ně zvýšený stres, úzkost, tzv. syndrom vyhoření, poruchy spánku, gastrointestinální, kardiovaskulární a reprodukční poruchy a také vývoj různých typů nádorových onemocnění (přehled Foster & Wulff, 2005). Důsledkem posunu může být insomnie a spánková deprivace. Úplná adaptace na nepřírozený rytmus není běžná, vyskytuje se u méně než 3% nočních pracovníků, což může být důsledkem vystavení celonočnímu světlu v práci a jasnému dennímu světlu při cestě domů (Burgess & Eastman, 2005; Arendt, 2010). Adaptaci pracovníků, kteří pracují stále v nočních směnách, brání také diurnální preference sociální povahy a chování během volných dnů, kdy tito pracovníci často zůstávají přes den vzhůru (Folkard, 2008).

Dalším faktorem, který narušuje cirkadiánní systém, je přelet přes více časových pásem a nutnost se skokem přizpůsobit časovému rozdílu. Následkem je soubor symptomů zvaný jet lag. Cirkadiánní systém se na tuto změnu adaptuje s posunem zhruba 1 h za 1 den. Pro člověka je jednodušší adaptovat se zpožděním fáze, jelikož endogenní perioda je obvykle o něco delší než 24 h. Proto jsou lépe snášeny cesty na západ (Gibbs *et al.*, 2002).



Obrázek 5: Křivka fázové odpovědi (PRC) na světelný stimul s použitím melatoninu jako markeru cirkadiánní fáze. Křivka znázorňuje fázovou odpověď na světelný stimul v závislosti k načasování vůči době maximální sekrece melatoninu (definované na 22 h) a minimu CBT (0 h). Pokud se křivka dostává do negativních hodnot, fáze se opožďuje. Pokud je v pozitivních hodnotách, dochází k předběhnutí fáze. Khalsa et al., 2003.

5 Cirkadiánní regulace spánku v průběhu ontogeneze

5.1 Ranně postnatální a kojenecký věk

Celková délka spánku u novorozence je 16 - 18 hodin denně. Spánek je přerušován kvůli krmení a dalším potřebám (přehled Davis *et al.*, 2004). NREM spánek je v tomto věkovém období charakterizován minimálními, případně malými pohyby a pravidelným dýcháním. Během REM spánku se vyskytuje nepravidelné dýchání, úsměvy, záškuby, sací pohyby a značné pohyby končetin. Pokud nelze polysomnograficky určit typ spánku, jedná se o spánek neurčitý (de Weerd & van den Bossche, 2003). Nástup spánku novorozenců je přes krátký cyklus REM. Poměr NREM a REM spánku je vyrovnaný (Curzi-Dascalova *et al.*, 1988). Ve věku kolem 3 měsíců se REM spánek objevuje v pozdějších fázích periody s typickou svalovou atonií, neinicuje již spánek a u NREM spánku lze pozorovat stadia N1-N3. U kojenců se s věkem spánek postupně přesouvá hlavně do nočních hodin, mění se poměr NREM/REM spánku s převahou NREM a celková doba spánku je cca 14-15 hodin (Davis *et al.*, 2004).

Novorozenci a kojenci často nejsou přes den příliš vystavováni jasnému světlu a naopak jsou vystaveni během noci při krmení, což může narušit s endogenní rytmy novorozence (Recio *et al.*, 1997). Při interakci dítěte s přirozeným světlem se cirkadiánní systém vyvine dříve než pokud je dítěti přístup světla omezen (Mirmiran & Ariagno, 2000). Harrison (2004) provedl studii, při které sledoval spánek dětí pomocí aktigrafie. Prokázal, že vystavení 6 - 12 týdnů starých dětí odpolednímu světlu způsobilo prodloužení spánku během noci a jeho zkrácení během dne, což naznačuje světelnou synchronizaci cirkadiánního rytmu a následnou regulaci spánku (Harrison, 2004). Při seřizování cirkadiánního systému novorozenců může hrát roli také mateřská péče (Nishihara *et al.*, 2002; Jenni *et al.*, 2006). Stejně tak může cirkadiánní rytmus dítěte ovlivňovat mateřské mléko a v něm obsažený melatonin (Illnerová *et al.*, 1993).

Asi 7 % novorozenců vykazuje endogenní rytmus B/S hned po narození (Shimada *et al.*, 1999) a naopak cirkadiánní rytmicita B/S u 12 % dětí není vyvinuta ani během 1. roku života (Wake *et al.*, 2006). Ve většině případů lze slabý cirkadiánní rytmus pozorovat už od 2. týdne po narození, kdy rytmus běží s periodou vyšší než 24 h (Nishihara *et al.*, 2012). Do 12. týdne se zvětšuje amplituda cirkadiánního rytmu a cirkadiánní rytmus je zřetelnější. Od té doby je cirkadiánní rytmus B/S relativně ustálen (Nishihara *et al.*, 2002, 2012). U novorozenců a kojenců je tedy značná variabilita ve vývoji cirkadiánního rytmu B/S, viz obrázek 6.

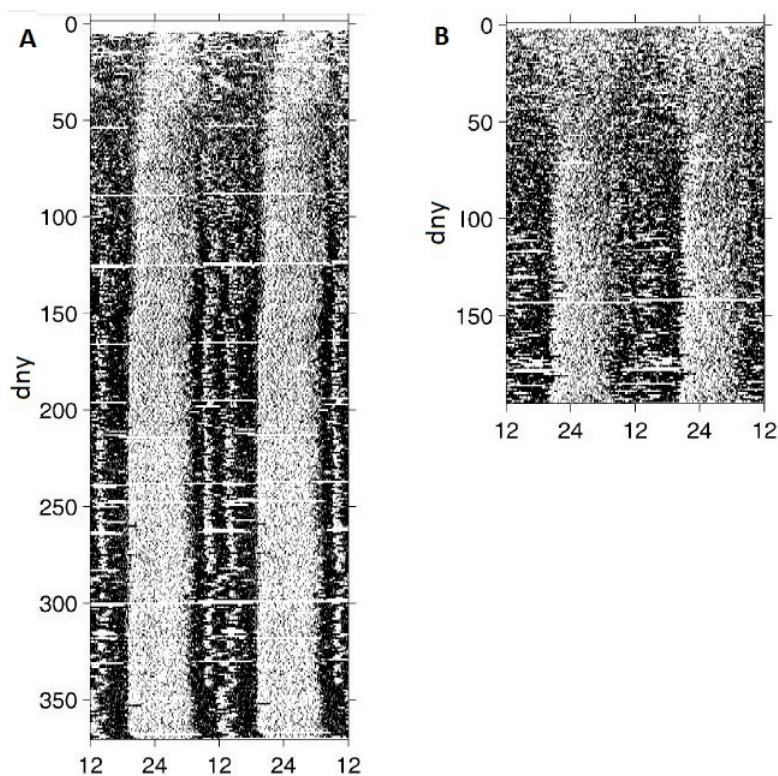
Nedonošené děti s postnatální péčí v inkubátorech jsou zbaveny rytmických signálů, kterými může matka jejich hodiny seřizovat během prenatalního období. Studie rytmu nedonošených dětí (porod 32 - 34 týdnů po početí) během postnatálního období ukázala, že ačkoli v 36. týdnu od početí spala nedonošená novorozeňata stejně dlouho v noci jako přes den, ve 3. měsíci postnatálního věku již vykazovala zřetelný cirkadiánní rytmus B/S. Je zajímavé, že již s nástupem 3. týdne byl u nich patrný cirkadiánní rytmus v CBT. Cirkadiánní rytmus se vyvine, i pokud na něj nepůsobí synchronizační vliv mateřských signálů. Cirkadiánní rytmus se vyvíjí jako funkce postkoncepčního stárnutí (Mirmiran & Ariagno, 2000; Mirmiran *et al.*, 2003a). Dopady péče o novorozence v inkubátorech na cirkadiánní systém jsou ovšem stále nejasné (Brooks & Canal, 2013).

V prvních měsících života je během dne (6:00 - 22:00 hod.) pozorována zvýšená hladina melatoninu s maximální hodnotou v ranních hodinách. Za normálních okolností se s věkem denní hladina melatoninu snižuje. Vyšší hodnoty melatoninu během noci a naopak potlačení sekrece melatoninu během dne korelují s vyvinutým cirkadiánním rytmem B/S (Wake *et al.*, 2006). U nedonošených dětí je sekrece melatoninu v prvním roce života prokazatelně nižší než u dětí donošených. Není jasné, zda je to důsledkem vystavení nepřetržitému světlu v inkubátoru nebo nevyzrálostí mozku a nervového systému u nedonošených dětí (Goldstein-Ferber & Makhoul, 2010)

5.2 Batolecí věk

Batolata (1 - 3 roky) tráví spánkem přibližně 13 h denně (Iglowstein *et al.*, 2003). Podíl REM spánku v jedné spánkové periodě se snižuje na cca 30 % (Davis *et al.*, 2004). Spánek je dvoufázový - noční a odpolední. Noční spánek je hlavní a trvá kolem 10,5 h (Acebo *et al.*, 2005).

V nadpoloviční většině případů se u batolat vyskytuje ranní chronotyp. V ostatních případech je pozorován střední chronotyp. Naopak večerní preference se v podstatě nevyskytuje. Chronotyp batolat pozitivně koreluje s DLMO (viz kapitola 2.4), kdy dřívější nástup sekrece melatoninu odpovídá za dřívější usínání a dřívější vstávání (Simpkin *et al.*, 2014). Spánek začíná průměrně v 19:30 hod a trvá 11,2 h. Z výsledků LeBourgeois *et al.* (2013) vyplývá, že interindividuální rozdíly v načasování DLMO úzce souvisí s rozhodnutím rodičů, kdy ukládají dítě ke spánku. Zároveň podporují předpoklad, že cirkadiánní fáze závisí na čase buzení (Burgess & Eastman,



Obrázek 6: Aktigrafie novorozenců v prvních měsících života. Bíle je znázorněn motorický útlum, černě aktivita. Horizontální osa udává denní dobu, vertikální udává postnatální věk ve dnech. U některých novorozenců je patrný cirkadiánní rytmus aktivity/klidu již od narození (A). V jiném případě novorozenec vykazuje v prvních týdnech ultradiánní rytmus, který během třetího měsíce přechází v cirkadiánní a postupně se ustáluje (B). Jenni et al., 2006.

2005). Mezi batolaty nebyla zjištěna spojitost mezi regulací spánku a pohlavím, jako je tomu v pozdějším věku (Simpkin *et al.*, 2014; Scher *et al.*, 2010).

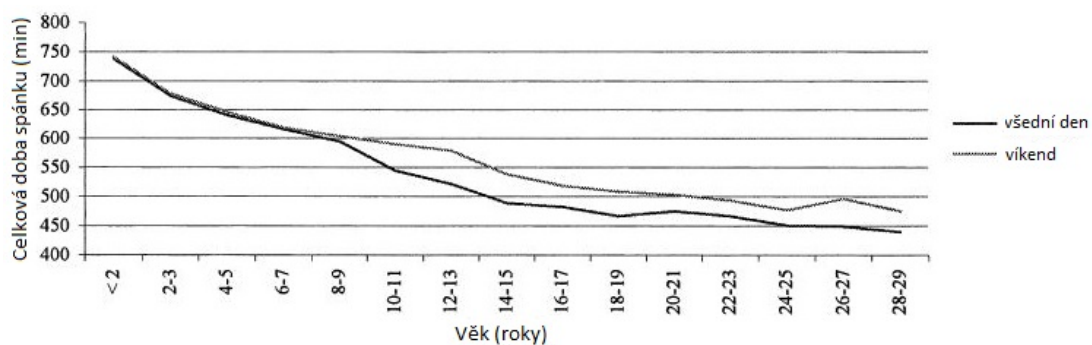
5.3 Předškolní a mladší školní věk

V předškolním věku (3 - 5 let), zejména kolem 5. roku, se vytrácí odpolední spánek a spánek se vyskytuje převážně v noci (Acebo *et al.*, 2005). Celková doba spánku je 11,5 h denně (Iglowstein *et al.*, 2003). V mladším školním věku (5 - 10 let) se doba strávená spánkem zkracuje. Mění se složení spánku a kolem 8 let začínají ubývat na EEG theta vlny (Jenni & Carskadon, 2004).

Ve spánku dětí předškolního věku se vyskytují značné rozdíly dané sociokulturními zvyklostmi. Například v České republice je v předškolním věku poměrně extrémní preference ranní aktivity, kdežto v Japonsku je fáze oproti České republice opožděna a majoritní je preference večerní. V žádném z těchto případů však nejsou děti deprivované nedostatkem spánku, děti s večerní preferencí sice chodí spát později, ale pozdější je i nástup do školky a tedy i vstávání, tzn. celý

cirkadiánní rytmus je fázově opožděný (Wada *et al.*, 2009).

S přibývajícím věkem, tj. cca v 8 letech, se začíná cirkadiánní fáze u prepubertálních dětí zpozdovat. V porovnání s batolaty se DLMO objevuje přibližně o hodinu později (Crowley *et al.*, 2007; LeBourgeois *et al.*, 2013). Zpoždění fáze se projevuje převážně o víkendech, kdy podobně jako adolescenti chodí děti spát později a později také vstávají. Posun fáze není tak markantní jako u adolescentů, ale je patrný. Rozdíl v celkové době spánku mezi víkendy a všedními dny je přibližně 1 hodina. Prepubertální děti s večerní preferencí spí o víkendu déle než děti se spíše ranní preferencí, čímž se pravděpodobně snaží dohnat spánkový dluh vzniklý během školního týdne. Večerní preference ovšem pozitivně koreluje s ospalostí během dne (Russo *et al.*, 2007), což může být spojeno s nepravidelností spánku (Manber *et al.*, 1996). Tento trend následně pokračuje v období adolescence, kdy dochází k jeho prohlubování. Odlišné načasování spánku mezi víkendy a všedními dny přetrvává do dospělosti, viz obrázek 7.



Obrázek 7: Celková doba spánku (min) ve všední dny a o víkendech v závislosti na věku. Thorleifsdottir *et al.*, 2002.

5.4 Adolescence

Adolescence (10 - 20 let) je období dospívání, které probíhá v druhé dekádě života. Toto období je iniciováno reaktivací hypothalamo-hypofyzární osy a nástupem puberty. Nezahrnuje pouze pubertu (maturaci reprodukčního systému), ale také zrání emoční, kognitivní a sociální (Sisk & Zehr, 2005). Adolescenti vyžadují poměrně dlouhý spánek - 9,3 hod denně (Carskadon & Rechtschaffen, 2000; Carskadon *et al.*, 1999). Během adolescence se na EEG snižuje zastoupení SWS během spánku. Theta vlny dále ubývají a ustavují se kolem 16 let. Snižuje se zastoupení delta vln, a to mezi 11 a 18 lety, paralelně s pubertálním zráním, převážně pak s vývojem

pubického ochlupení. Prominentním stadiem spánkového cyklu se v tomto období stává N2 (Jenni & Carskadon, 2004).

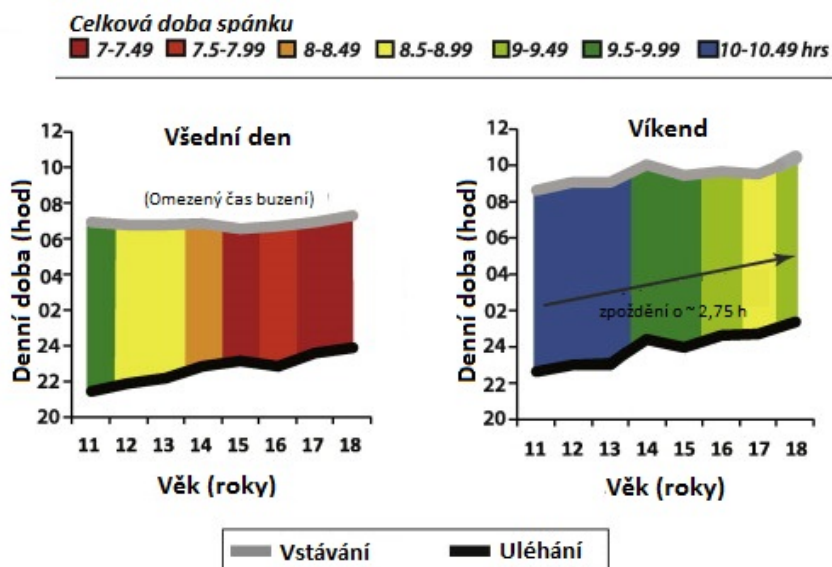
Endogenní perioda cirkadiálního rytmu adolescentů se podle výsledků Carskadon *et al.* (1999) prodlužuje na přibližně 24,3 h. To může být důvodem ke zpoždění cirkadiální fáze. Období adolescence je typické pozdější dobou usínání. Během všedních dní adolescenti spí méně hodin s důsledkem zvýšené ospalosti a dřímáním během dne a také vznikem spánkového dluhu (Thorleifsdottir *et al.*, 2002; Van Dongen *et al.*, 2003). To je vedle biologické podstaty dáno mnoha externími vlivy, od zvyšujících se školních a/nebo pracovních povinností, přes sociální vztahy, po večerní aktivity, jako např. společenská zábava, sledování televize či internetu (Carskadon, 1990; Bulck, 2004).

Zpoždění cirkadiální fáze pozitivně koreluje se stádiem vývoje sekundárních pohlavních znaků, tzv. Tannerovo stádium (Sadeh *et al.*, 2009b), a to prostřednictvím působení pohlavních hormonů na cirkadiální systém. U starších adolescentů je tedy zpoždění periody patrnější než u mladších (Carskadon *et al.*, 1993). U dívek dochází k maximálnímu posunu fáze směrem k večernímu chronotypu mezi 15. a 19,5. rokem, u mužů mezi 18 - 21 lety. U mužů je posun výraznější (viz obrázek 8). Přestože tento trend je v různých zemích napříč světem stejný, nástup puberty se liší v různých geografických územích a sociálních skupinách a věkové vymezení může být tedy odlišné (Randler *et al.*, 2012; Roenneberg *et al.*, 2004).

Během vývoje se mění i citlivost cirkadiálního systému ke světlu, měřená pomocí sledování potlačení sekrece melatoninu po vystavení světelným pulzům trvajícím 1 h. Starší adolescenti byli prokazatelně méně citliví k vystavení tlumenému světlu v ranních hodinách (mezi 03:00 a 04:00 h) než ti mladší (Carskadon & Acebo, 2002 podle Hagenauer *et al.*, 2009). Starší adolescenti (15-17 let) vykazují posun fáze rytmu v melatoninu (DLMO) i o víkendech, kdy jsou vystaveni jasnému rannímu světlu (Crowley, 2009). Tyto studie naznačují, že adolescenti mohou mít oslabené fázové předběhnutí v reakci na ranní světlo a naopak přehnanou reakci na vystavení světlu během večera, které fázi opožďuje (Hagenauer *et al.*, 2009). Z toho důvodu je pravděpodobné, že PRC adolescentů se může lišit od PRC dospělých.

5.5 Dospělí

V dospělosti je potřeba spánku nastavena na 7 - 8,5 h denně. NREM spánek tvoří 75 - 80% celkové doby spánku, REM zbývajících 20 - 25%. U starších osob se snižuje celková doba spánku

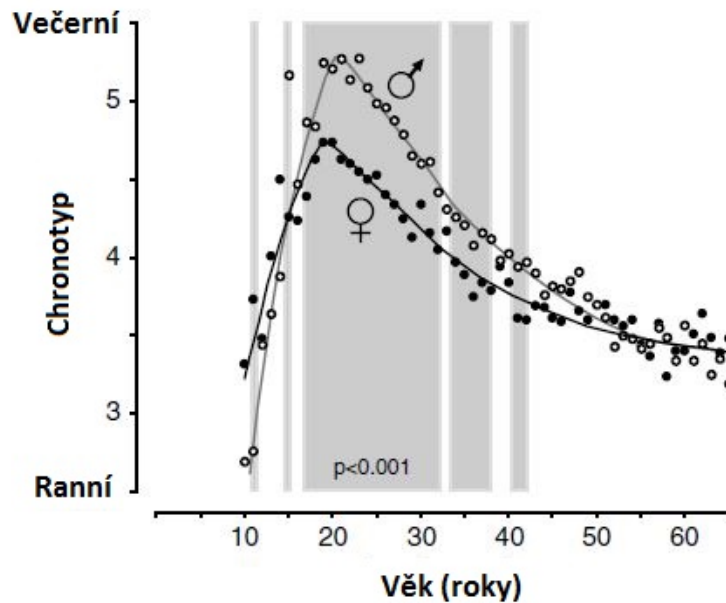


Obrázek 8: Načasování posunu spánku během adolescence. Průměrné časy usínání a vstávání jsou zobrazené pro víkendy a všední dny zvlášť. Načasování spánku se během adolescence značně opoždí uje. Tato změna je více znatelná během víkendu. Změna se ale objevuje i ve všední dny, kdy je čas vstávání omezen a snižuje se tak celková doba trvání spánku. Hagenauer & Lee, 2012.

a ubývá stadium N3 NREM spánku, naopak se častěji vyskytuje stadium N1 a dochází k častému buzení (Carskadon & Dement, 2011).

Endogenní cirkadiánní perioda u zdravých dospělých je ve většině případů delší než 24 h, průměrně 24,15 h. Endogenní perioda zjištěná na základě CBT a sekrece melatoninu je prokazatelně kratší u žen než u mužů. Je možné, že právě z důvodů kratší periody je u žen, v porovnání s muži, vyvinuta spíše ranní preference (Duffy *et al.*, 2011). Minimální hodnota CBT se pohybuje kolem 6 hod ráno u mladších (do 30 let) a kolem 5 hod u starších lidí (kolem 70 let), což pozitivně koreluje s dobou vstávání (Dijk & Czeisler, 1995). Cirkadiánní tlak je nejsilnější mezi 21. a 22. hod, kdy brání předčasnému usnutí (Cajochen *et al.*, 2003) a minima dosahuje cirkadiánní fáze společně s (nebo mírně po) minimální hodnotě CBT (Dijk & Czeisler, 1995).

Ranní chronotyp je v dospělosti typický spíše pro ženy. Nicméně se s postupem času rannímu chronotypu přibližují i muži a kolem 50 let se tendence k časnějšímu uléhání a vstávání stává dominantní u obou pohlaví, obrázek 9 (Roenneberg *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2010). S vyšším věkem dochází ke zvýšení přerušování spánku a snižuje se podíl SWS. Problémy s přerušovaným spánkem začínají už ve středním věku a postupně se prohlubují (Carrier *et al.*, 2001). Výsledky studií zaměřených na vliv cirkadiánního systému na změny a poruchy spánku ve stáří jsou nekonzistentní (Crowley, 2011). Reportují snížení amplitudy melatoninu, CBT a dalších markerů cirkadiánního rytmu, ale ne jako všeobecný trend (Zeitzer *et al.*, 1999; Niggemeyer *et al.*, 2004).



Obrázek 9: Změny chronotypu v závislosti na věku a pohlaví. Plné kroužky a černá linka: ženy; prázdné kroužky a šedá linka: muži. Roenneberg et al., 2004.

Snížení noční sekrece melatoninu může vést k porušení cirkadiálního rytmu, zejména k fázovému předběhnutí (Foley *et al.*, 1995). Ve výsledku chodí spát starší lidé dříve než mladší a budí se velmi brzy ráno (Foley *et al.*, 1995). Přesto ale fázový posun a diurnální preference nekoreluje s délkou endogenní periody, posun tedy není způsoben pouze zkrácením či prodloužením periody (Duffy & Czeisler, 2002).

Silva *et al.* (2010) provedli výzkum metodou nucené desynchronizace na dvou skupinách dospělých, tj. mladších s průměrným věkem 24,5 let a starších s průměrem 64,0 let. Výkon a bdělost starších osob byly méně ovlivněny účinkem opakovaného vystavení nepřírodným světelným podmínkám. Je tedy možné, že s věkem se mění účinek cirkadiálního systému na navozování bdělosti. Při spánkové deprivaci také udržují starší lidé pozornost a bdělost lépe než mladší lidé (Duffy *et al.*, 2009). Obecně lze říci, že cirkadiální rytmus je u starších lidí jistým způsobem narušen, ale není jasné, zda to nutně souvisí s nestálostí spánku, změnou načasování spánku a redukcí SWS vln. V tomto ohledu zjištění o vlivu cirkadiálního systému na změny spánku nejsou jednoznačné (Crowley, 2011).

6 Závěr

Cílem práce bylo shrnout poznatky o cirkadiánní regulaci spánku v průběhu ontogeneze člověka. Vzhledem k povaze výzkumů nebyly prozatím u člověka sledovány změny v cirkadiánním rytmu během ontogeneze na molekulární úrovni. Nicméně je možné sledování změny fáze výstupních rytmů (jako např. v produkci melatoninu, CBT, pohybové aktivity, doby usínání a vstávání, a jiných) dané ontogenetickým vývojem.

Během života dochází ke změnám diurnálních preferencí. Po narození jsou značné interindividuální rozdíly ve vývoji cirkadiánního rytmu spánku. Obecně ale v prvních letech života jasně dominuje ranní preference. Během mladšího školního věku se cirkadiánní fáze začíná lehce zpožďovat a maximální posun do večerních hodin se projevuje během adolescence. Tento posun prokazatelně koreluje s pubertálním stádiem a pohlavím. Dříve se objevuje u žen kvůli dřívějšímu nástupu puberty, zatímco u mužů je fázový posun výraznější. Zároveň během adolescence dochází k prodloužení endogenní periody, což může být důvodem zpoždění cirkadiánní fáze. S nástupem dospělosti se ženy vrací k ranní preferenci, u mužů přetrvává spíše večerní, ale také se věkem stává dřívější. Ve středním věku se rozdíly mezi diurnálními preferencemi žen a mužů zmenšují a v pozdějším věku jsou preference obou pohlaví nastavené na extrémní ranní chronotyp. Na rozdíl od adolescentů však nebylo prokázáno, že změna vnitřní periody je příčinou posunu fáze k rannímu chronotypu. Obecně jsou výsledky výzkumů vlivu cirkadiánního systému na spánek u starých lidí značně nekonzistentní.

Cirkadiánní regulace spánku během ontogeneze člověka tedy podléhá výrazným změnám, a to nejen v závislosti na věku, ale také na pohlaví.

7 Použitá literatura

- Abe, M., Herzog, E.D., Yamazaki, S., Straume, M., Tei, H., Sakaki, Y., Menaker, M. & Block, G.D. (2002). Circadian rhythms in isolated brain regions. *The Journal of neuroscience*, 22(1), pp. 350–6.
- Abrahamson, E.E. & Moore, R.Y. (2001). Suprachiasmatic nucleus in the mouse: retinal innervation, intrinsic organization and efferent projections. *Brain research*, 916(1-2), pp. 172–91.
- Acebo, C., Sadeh, A., Seifer, R., Tzischinsky, O., Hafer, A. & Carskadon, M.a. (2005). Sleep/wake patterns derived from activity monitoring and maternal report for healthy 1- to 5-year-old children. *Sleep*, 28(12), pp. 1568–77.
- Adan, A., Archer, S.N., Hidalgo, M.P., Di Milia, L., Natale, V. & Randler, C. (2012). Circadian typology: a comprehensive review. *Chronobiology international*, 29(9), pp. 1153–75.
- Akashi, M., Tsuchiya, Y., Yoshino, T. & Nishida, E. (2002). Control of Intracellular Dynamics of Mammalian Period Proteins by Casein Kinase I ϵ (CKI ϵ) and CKI δ in Cultured Cells. *Molecular and Cellular Biology*, 22(6), pp. 1693–1703.
- Amir, S., Lamont, E.W., Robinson, B. & Stewart, J. (2004). A circadian rhythm in the expression of PERIOD2 protein reveals a novel SCN-controlled oscillator in the oval nucleus of the bed nucleus of the stria terminalis. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 24(4), pp. 781–90.
- Ando, H., Takamura, T., Matsuzawa-Nagata, N., Shima, K.R., Eto, T., Misu, H., Shiramoto, M., Tsuru, T., Irie, S., Fujimura, a. & Kaneko, S. (2009). Clock gene expression in peripheral leucocytes of patients with type 2 diabetes. *Diabetologia*, 52(2), pp. 329–35.
- Archer, S.N., Robilliard, D.L., Skene, D.J., Smits, M., Williams, A., Arendt, J. & von Schantz, M. (2003). A Length Polymorphism in the Circadian Clock Gene Per3 is Linked to Delayed Sleep Phase Syndrome and Extreme Diurnal Preference. *Sleep*, 26(4), pp. 413–415.
- Arendt, J. (2006). Melatonin and human rhythms. *Chronobiology International*, 23(1-2), pp. 21–37.
- Arendt, J. (2010). Shift work: coping with the biological clock. *Occupational medicine (Oxford, England)*, 60(1), pp. 10–20.
- Axelrod, J. (1974). The pineal gland: a neurochemical transducer. *Science (New York, N.Y.)*, 184, pp. 1341–8.
- Balsalobre, A., Damiola, F. & Schibler, U. (1998). A serum shock induces circadian gene expression in mammalian tissue culture cells. *Cell*, 93(6), pp. 929–37.
- Berson, D.M., Dunn, F.a. & Takao, M. (2002). Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock. *Science (New York, N.Y.)*, 295(5557), pp. 1070–3.
- Bjarnason, G.a., Jordan, R.C., Wood, P.a., Li, Q., Lincoln, D.W., Sothorn, R.B., Hrushesky, W.J. & Ben-David, Y. (2001). Circadian expression of clock genes in human oral mucosa and skin: association with specific cell-cycle phases. *The American journal of pathology*, 158(5), pp. 1793–801.
- Borbély, A.A. (1982). A two process model of sleep regulation. *Hum. Neurobiol.*, 1(3), pp. 195–204.
- Borbély, A.A. & Achermann, P. (1999). Sleep homeostasis and models of sleep regulation. *Journal of biological rhythms*, 14(6), pp. 559–68.
- Braak, H. & Braak, E. (1992). Anatomy of the Human hypothalamus (chiasmatic and tuberal region). *Progress in brain research*, 93, pp. 3–18.
- Brooks, E. & Canal, M.M. (2013). Development of circadian rhythms: role of postnatal light environment. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 37(4), pp. 551–60.
- Bulck, J.V.D. (2004). Television Viewing , Computer Game Playing , and Internet Use and Self-Reported Time to Bed and Time out of Bed in Secondary-School Children. *Sleep*, 27(1), pp. 101–104.

- Bunger, M.K., Wilsbacher, L.D., Moran, S.M., Clendenin, C., Radcliffe, L.A., Hogenesch, J.B., Simon, M.C., Takahashi, J.S. & Bradfield, C.A. (2000). Mop3 Is an Essential Component of the Master Circadian Pacemaker in Mammals. *Cell*, 103(7), pp. 1009–1017.
- Burgess, H.J. & Eastman, C.I. (2005). The dim light melatonin onset following fixed and free sleep schedules. *Journal of psychosomatic research*, 14(3).
- Burlet, S., Tyler, C.J. & Leonard, C.S. (2002). Direct and indirect excitation of laterodorsal tegmental neurons by Hypocretin/Orexin peptides: implications for wakefulness and narcolepsy. *The Journal of neuroscience*, 22(7), pp. 2862–72.
- Cajochen, C., Kräuchi, K. & Wirz-Justice, a. (2003). Role of melatonin in the regulation of human circadian rhythms and sleep. *Journal of neuroendocrinology*, 15(4), pp. 432–7.
- Carlezon, W.a., Duman, R.S. & Nestler, E.J. (2005). The many faces of CREB. *Trends in neurosciences*, 28(8), pp. 436–45.
- Carrier, J., Land, S., Buysse, D.J., Kupfer, D.J. & Monk, T.H. (2001). The effects of age and gender on sleep EEG power spectral density in the middle years of life (ages 20-60 years old). *Psychophysiology*, 38(2), pp. 232–42.
- Carskadon, M. & Rechtschaffen, A. (2000). Monitoring and staging human sleep. *Principles and Practice of Sleep Medicine*, 3, pp. 1197–1215.
- Carskadon, M.A. (1990). Patterns of Sleep and Sleepiness in Adolescents. *Pediatrician*, 17, pp. 5–12.
- Carskadon, M.a. & Acebo, C. (2002). Regulation of sleepiness in adolescents: update, insights, and speculation. *Sleep*, 25(6), pp. 606–14.
- Carskadon, M.A. & Dement, W.C. (2011). Normal Human Sleep: An Overview. In: *Principles and Practice of Sleep Medicine*, chapter 2, St. Louis: Elsevier Saunders, 5th edition, pp. 16–26.
- Carskadon, M.A., Labyak, S.E., Acebo, C. & Seifer, R. (1999). Intrinsic circadian period of adolescent humans measured in conditions of forced desynchrony. *Neuroscience letters*, 260, pp. 129–132.
- Carskadon, M.A., Vieira, C. & Acebo, C. (1993). Association between Puberty and Delayed Phase Preference. *Sleep*, 16(3), pp. 258–262.
- Chase, M.H., Soja, P.J. & Morales, F.R. (1989). Evidence that glycine mediates the postsynaptic potentials that inhibit lumbar motoneurons during the atonia of active sleep. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 9(3), pp. 743–51.
- Chou, T.C., Bjorkum, A.a., Gaus, S.E., Lu, J., Scammell, T.E. & Saper, C.B. (2002). Afferents to the ventrolateral preoptic nucleus. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 22(3), pp. 977–90.
- Chou, T.C., Scammell, T.E., Gooley, J.J., Gaus, S.E., Saper, C.B. & Lu, J. (2003). Critical role of dorso-medial hypothalamic nucleus in a wide range of behavioral circadian rhythms. *The Journal of neuroscience*, 23(33), pp. 10691–702.
- Colten, H.R. & Altevogt, B.M. (2006). Sleep Physiology. In: *Sleep Disorders and Sleep Deprivation: An Unmet Public Health Problem*, chapter Sleep Arch, National Academy of Science, ISBN 030965727X, pp. 33–54.
- Crowley, K. (2011). Sleep and sleep disorders in older adults. *Neuropsychology review*, 21(1), pp. 41–53.
- Crowley, S.J. (2009). *Weekend recovery sleep in adolescents: Can it occur without a circadian phase delay?* Ph.D. thesis.
- Crowley, S.J., Acebo, C. & Carskadon, M.a. (2007). Sleep, circadian rhythms, and delayed phase in adolescence. *Sleep medicine*, 8(6), pp. 602–12.
- Curzi-Dascalova, L., Peirano, P. & Morel-Kahn, F. (1988). Development of sleep states in normal premature and full-term newborns. *Developmental psychobiology*, 21(5), pp. 431–44.
- Daan, S., Beersma, D.G. & Borbély, a.a. (1984). Timing of human sleep: recovery process gated by a circadian pacemaker. *The American journal of physiology*, 246(2 Pt 2), pp. R161–83.

- Dai, J., Swaab, D.F. & Buijs, R.M. (1997). Distribution of vasopressin and vasoactive intestinal polypeptide (VIP) fibers in the human hypothalamus with special emphasis on suprachiasmatic nucleus efferent projections. *The Journal of comparative neurology*, 383(4), pp. 397–414.
- Damiola, F., Minh, N.L., Preitner, N., Fleury-olela, F. & Schibler, U. (2000). Restricted feeding uncouples circadian oscillators in peripheral tissues from the central pacemaker in the suprachiasmatic nucleus. *GENES & DEVELOPMENT*, 14, pp. 2950–2961.
- Davis, K.F., Parker, K.P. & Montgomery, G.L. (2004). Sleep in infants and young children. *Journal of Pediatric Health Care*, 18(2), pp. 65–71.
- de Weerd, A.W. & van den Bossche, R.A. (2003). The development of sleep during the first months of life. *Sleep Medicine Reviews*, 7(2), pp. 179–191.
- Dibner, C., Schibler, U. & Albrecht, U. (2010). The mammalian circadian timing system: organization and coordination of central and peripheral clocks. *Annual review of physiology*, 72, pp. 517–49.
- Dijk, D.J. & Czeisler, C.a. (1995). Contribution of the circadian pacemaker and the sleep homeostat to sleep propensity, sleep structure, electroencephalographic slow waves, and sleep spindle activity in humans. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 15(5 Pt 1), pp. 3526–38.
- Dijk, D.J. & Czeisler, C.A. (1994). Paradoxical timing of the circadian rhythm of sleep propensity serves to consolidate sleep and wakefulness in human. *Neuroscience letters*, 166(1), pp. 63–68.
- Dijk, D.J., Duffy, J.F., Riel, E., Shanahan, T.L. & Czeisler, C.a. (1999). Ageing and the circadian and homeostatic regulation of human sleep during forced desynchrony of rest, melatonin and temperature rhythms. *The Journal of physiology*, 516 (Pt 2, pp. 611–27.
- Duffy, J.F., Dijk, D.J., Klerman, E.B. & Czeisler, C.a. (1998). Later endogenous circadian temperature nadir relative to an earlier wake time in older people. *The American journal of physiology*, 275(5 Pt 2), pp. R1478–87.
- Duffy, J.F., Cain, S.W., Chang, A.M., Phillips, A.J.K., Münch, M.Y., Gronfier, C., Wyatt, J.K., Dijk, D.J., Wright, K.P. & Czeisler, C.a. (2011). Sex difference in the near-24-hour intrinsic period of the human circadian timing system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108 Suppl, pp. 15602–8.
- Duffy, J.F. & Czeisler, C.a. (2002). Age-related change in the relationship between circadian period, circadian phase, and diurnal preference in humans. *Neuroscience letters*, 318(3), pp. 117–20.
- Duffy, J.F., Willson, H.J., Wang, W. & Czeisler, C.A. (2009). Healthy Older Adults Better Tolerate Sleep Deprivation Than Young Adult. *J Am Geriatr Soc. 2009*, 57(7), pp. 1245–1251.
- Ebling, F.J. (1996). The role of glutamate in the photic regulation of the suprachiasmatic nucleus. *Progress in neurobiology*, 50(2-3), pp. 109–32.
- Foley, D.J., Monjan, a.a., Brown, S.L., Simonsick, E.M., Wallace, R.B. & Blazer, D.G. (1995). Sleep complaints among elderly persons: an epidemiologic study of three communities. *Sleep*, 18(6), pp. 425–32.
- Folkard, S. (2008). Do Permanent Night Workers Show Circadian Adjustment? A Review Based on the Endogenous Melatonin Rhythm. *Chronobiology International*, 25(2-3), pp. 215–224.
- Foster, R.G. & Wulff, K. (2005). The rhythm of rest and excess. *Nature reviews. Neuroscience*, 6(5), pp. 407–14.
- Gao, B., Fritschy, J.M. & Moore, R.Y. (1995). GABAA-receptor subunit composition in the circadian timing system. *Brain research*, 700(1-2), pp. 142–56.
- Gekakis, N., Staknis, D., Nguyen, H.B., Davis, F.C., Wilsbacher, L.D., King, D.P., Takahashi, J.S. & Weitz, C.J. (1998). Role of the CLOCK protein in the mammalian circadian mechanism. *Science (New York, N.Y.)*, 280(5369), pp. 1564–9.
- Gibbs, M., Hampton, S., Morgan, L. & Arendt, J. (2002). Adaptation of the circadian rhythm of 6-

- sulphatoxymelatonin to a shift schedule of seven nights followed by seven days in offshore oil installation workers. *Neuroscience letters*, 325(2), pp. 91–4.
- Gillette, M. (1996). Regulation of entrainment pathways by the suprachiasmatic circadian clock: sensitivities to second messengers. *Progress in brain research*, 111(121-132).
- Goel, N., Basner, M., Rao, H. & Dinges, D.F. (2013). *Circadian rhythms, sleep deprivation, and human performance.*, volume 119. Elsevier Inc., 1st edition, ISBN 9780123969712.
- Goldstein-Ferber, S. & Makhoul, I.R. (2010). Preterm infants produce less melatonin than term infants at 9 and 12 months of age: A randomized controlled trial. *Journal of Pediatric Neurology*, 8(4), pp. 381–384.
- Granados-fuentes, D., Saxena, M.T., Prolo, L.M., Aton, S. & Herzog, E.D. (2004). Olfactory bulb neurons express functional, entrainable circadian rhythms. *European Journal of Neuroscience*, 19(4), pp. 898–906.
- Guo, H., Guo, H., Brewer, J.M., Lehman, M.N. & Bittman, E.L. (2006). Suprachiasmatic regulation of circadian rhythms of gene expression in hamster peripheral organs: effects of transplanting the pacemaker. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 26(24), pp. 6406–12.
- Gvilia, I., Xu, F., McGinty, D. & Szymusiak, R. (2006). Homeostatic regulation of sleep: a role for preoptic area neurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 26(37), pp. 9426–33.
- Hagenauer, M.H., Perryman, J.I., Lee, T.M. & Carskadon, M.a. (2009). Adolescent changes in the homeostatic and circadian regulation of sleep. *Developmental neuroscience*, 31(4), pp. 276–84.
- Hagenauer, M.H. & Lee, T.M. (2012). The neuroendocrine control of the circadian system: adolescent chronotype. *Frontiers in neuroendocrinology*, 33(3), pp. 211–29.
- Hannibal, J., Ding, J., Chen, D., Fahrenkrug, J., Larsen, P., Gillette, M. & Mikkelsen, J. (1997). Pituitary adenylate cyclase-activating peptide (PACAP) in the retinohypothalamic tract: a potential daytime regulator of the biological clock. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 17(7), pp. 2637–44.
- Harrison, Y. (2004). The relationship between daytime exposure to light and night-time sleep in 6-12-week-old infants. *Journal of sleep research*, 13(4), pp. 345–52.
- Hofman, M.A. (2000). The human circadian clock and aging. *Chronobiology international*, 17(3), pp. 245–59.
- Iber, C., Ancoli-Israel, S., Chesson, A.L. & Quan, S.F. (2007). *The AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events*. Technical report, American Academy of Sleep Medicine, Westchester, IL.
- Iglowstein, I., Jenni, O.G., Molinari, L. & Largo, R.H. (2003). Sleep duration from infancy to adolescence: reference values and generational trends. *Pediatrics*, 111(2), pp. 302–7.
- Illnerová, H., Buresová, M. & Presl, J. (1993). Melatonin rhythm in human milk. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 77(3), pp. 838–41.
- Jenni, O.G. & Carskadon, M.a. (2004). Spectral analysis of the sleep electroencephalogram during adolescence. *Sleep*, 27(4), pp. 774–83.
- Jenni, O.G., Deboer, T. & Achermann, P. (2006). Development of the 24-h rest-activity pattern in human infants. *Infant behavior & development*, 29(2), pp. 143–52.
- Jin, X., Shearman, L.P., Weaver, D.R., Zylka, M.J., Vries, G.J.D. & Reppert, S.M. (1999). A Molecular Mechanism Regulating Rhythmic Output from the Suprachiasmatic Circadian Clock. *Cell*, 96, pp. 57–68.
- Johnson, R., Morin, L. & Moore, R. (1988). Retinohypothalamic projections in the hamster and rat demonstrated using cholera toxin. *Brain research*, 462(2), pp. 301–12.

- Kalia, M. (2006). Neurobiology of sleep. *Metabolism*, 55(Suppl 2), pp. S2–S6.
- Khalsa, S.B.S., Jewett, M.E., Cajochen, C. & Czeisler, C.a. (2003). A phase response curve to single bright light pulses in human subjects. *The Journal of physiology*, 549(Pt 3), pp. 945–52.
- Kim, S.J., Lee, Y.J., Kim, H., Cho, I.H., Lee, J.Y. & Cho, S.J. (2010). Age as a moderator of the association between depressive symptoms and morningness-eveningness. *Journal of psychosomatic research*, 68(2), pp. 159–64.
- Klein, D., Moore, R. & Reppert, S. (1991). *Suprachiasmatic Nucleus: The Mind's Clock*. New York: Oxford University Press, Inc.
- Kornhauser, J.M., Ginty, D.D., Greenberg, M.E., Mayo, K.E. & Takahashi, J.S. (1996). Light entrainment and activation of signal transduction pathways in the SCN. *Progress in brain research*, 111, pp. 133–146.
- Kováčiková, Z., Sládek, M., Bendová, Z., Illnerová, H. & Sumová, A. (2006). Expression of clock and clock-driven genes in the rat suprachiasmatic nucleus during late fetal and early postnatal development. *Journal of biological rhythms*, 21(2), pp. 140–8.
- Leak, R.K., Card, J.P. & Moore, R.Y. (1999). Suprachiasmatic pacemaker organization analyzed by viral transynaptic transport. *Brain research*, 819(1-2), pp. 23–32.
- Leander, P., Vrang, N. & Møller, M. (1998). Neuronal projections from the mesencephalic raphe nuclear complex to the suprachiasmatic nucleus and the deep pineal gland of the golden hamster (*Mesocricetus auratus*). *The Journal of comparative neurology*, 399(1), pp. 73–93.
- LeBourgeois, M.K., Carskadon, M.A., Akacem, L.D., Simpkin, C.T., Wright Jr, K.P., Achermann, P. & Jenni, O.G. (2013). Circadian Phase and Its Relationship to Nighttime Sleep in Toddlers. *Journal of biological rhythms*, 28(5), pp. 322–331.
- Lerner, A.B., Case, J.D., Takahashi, Y., Lee, T.H. & Mori, W. (1958). ISOLATION OF MELATONIN, THE PINEAL GLAND FACTOR THAT LIGHTENS MELANOCYTES. *J. Am. Chem. Soc.*, 80(10), p. 2587.
- Lewy, A., Wehr, T., Goodwin, F., Newsome, D. & Markey, S. (1980). Light suppresses melatonin secretion in humans. *Science*, 210, pp. 1267–1269.
- Liu, C. & Reppert, S.M. (2000). GABA Synchronizes Clock Cells within the Suprachiasmatic Circadian Clock. *Neuron*, 25, pp. 123–128.
- Lu, J., Greco, M.a., Shiromani, P. & Saper, C.B. (2000). Effect of lesions of the ventrolateral preoptic nucleus on NREM and REM sleep. *The Journal of neuroscience*, 20(10), pp. 3830–42.
- Lu, J., Zhang, Y.H., Chou, T., S.E., G., Elmquist, J., Shiromani, P. & Saper, C. (2001). Contrasting Effects of Ibotenate Lesion of the Paraventricular Nucleus and Subparaventricular Zone on Sleep-Wake Cycle and Temperature Regulation. *The Journal of neuroscience*, 21(13), pp. 4864–4874.
- Lu, J., Bjorkum, A.a., Xu, M., Gaus, S.E., Shiromani, P.J. & Saper, C.B. (2002). Selective activation of the extended ventrolateral preoptic nucleus during rapid eye movement sleep. *The Journal of neuroscience*, 22(11), pp. 4568–76.
- Lu, J., Sherman, D., Devor, M. & Saper, C.B. (2006). A putative flip-flop switch for control of REM sleep. *Nature*, 441(7093), pp. 589–94.
- Manber, R., Bootzin, R., Acebo, C. & Carskadon, M.A. (1996). Behavioral Treatment and Sleep The Effects of Regularizing Sleep-Wake Schedules on Daytime Sleepiness. *Sleep*, 19(5), pp. 432–441.
- Maywood, E.S., O'Brien, J.a. & Hastings, M.H. (2003). Expression of mCLOCK and other circadian clock-relevant proteins in the mouse suprachiasmatic nuclei. *Journal of neuroendocrinology*, 15(4), pp. 329–34.
- Maywood, E.S., Smith, E., Hall, S.J. & Hastings, M.H. (1997). A thalamic contribution to arousal-induced, non-photically entrainment of the circadian clock of the Syrian hamster. *The European journal of neuroscience*, 9(8), pp. 1739–47.

- Meijer, J.H. & Schwartz, W.J. (2003). In Search of the Pathways for Light-Induced Pacemaker Resetting in the Suprachiasmatic Nucleus. *Journal of biological rhythms*, 18(3), pp. 253–249.
- Meyer-Bernstein, E.L. & Morin, L.P. (1996). Differential serotonergic innervation of the suprachiasmatic nucleus and the intergeniculate leaflet and its role in circadian rhythm modulation. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 16(6), pp. 2097–2111.
- Michel, S., Itri, J., Han, J.H., Gniotczynski, K. & Colwell, C.S. (2006). Regulation of glutamatergic signalling by PACAP in the mammalian suprachiasmatic nucleus. *BMC neuroscience*, 7(15).
- Mirmiran, M. & Ariagno, R.L. (2000). Influence of Light in the NICU on the Development of Circadian Rhythms in Preterm Infants. *Seminars on Perinatology*, 24(4), pp. 247–257.
- Mirmiran, M., Baldwin, R.B. & Ariagno, R.L. (2003a). Circadian and sleep development in preterm infants occurs independently from the influences of environmental lighting. *Pediatric research*, 53(6), pp. 933–8.
- Moore, R.Y. (1991). Development of the suprachiasmatic nucleus. In: *Suprachiasmatic Nucleus: The mind's clock.*, New York: Oxford University Press, pp. 197–216.
- Moore, R.Y. (1996). Neural control of the pineal gland. *Behavioural brain research*, 73(1-2), pp. 125–30.
- Moore, R.Y., Speh, J.C. & Leak, R.K. (2002). Suprachiasmatic nucleus organization. *Cell and tissue research*, 309(1), pp. 89–98.
- Moore, Y.J. & Bernstein, E. (1989). Synaptogenesis in the Rat Suprachiasmatic Nucleus Demonstrated by Electron Microscopy and Synapsin I Immunoreactivity. *The Journal of neuroscience*, 9(6), pp. 2151–2162.
- Morin, L.P. & Allen, C.N. (2006). The circadian visual system, 2005. *Brain research reviews*, 51(1), pp. 1–60.
- Nielsen, H.S., Hannibal, J. & Fahrenkrug, J. (2002). Vasoactive intestinal polypeptide induces per1 and per2 gene expression in the rat suprachiasmatic nucleus late at night. *European Journal of Neuroscience*, 15, pp. 570–574.
- Niggemyer, K.a., Begley, A., Monk, T. & Buysse, D.J. (2004). Circadian and homeostatic modulation of sleep in older adults during a 90-minute day study. *Sleep*, 27(8), pp. 1535–41.
- Nishihara, K., Horiuchi, S., Eto, H., Kikuchi, S. & Hoshi, Y. (2012). Relationship between infant and mother circadian rest-activity rhythm pre- and postpartum, in comparison to an infant with free-running rhythm. *Chronobiology international*, 29(3), pp. 363–70.
- Nishihara, K., Horiuchi, S., Eto, H. & Uchida, S. (2002). The development of infants' circadian rest-activity rhythm and mothers' rhythm. *Physiology & behavior*, 77(1), pp. 91–8.
- Noguchi, T., Watanabe, K., Ogura, A. & Yamaoka, S. (2004). The clock in the dorsal suprachiasmatic nucleus runs faster than that in the ventral. *The European journal of neuroscience*, 20(11), pp. 3199–202.
- Piggins, H.D., Antie, M.C. & Rusak, B. (1995). Neuropeptides Phase Shift the Mammalian Circadian Pacemaker. *The Journal of neuroscience*, 15(8), pp. 5612–5622.
- Porkka-Heiskanen, T., Strecker, R.E., Thakkar, M., Bjorkum, A.A., Greene, R.W. & McCarley, R.W. (1997). Adenosine: A Mediator of the Sleep-Inducing Effects of Prolonged Wakefulness. *Science*, 276(5316), pp. 1265–1268.
- Preitner, N., Damiola, F., Luis-Lopez-Molina, Zakany, J., Duboule, D., Albrecht, U. & Schibler, U. (2002). The Orphan Nuclear Receptor REV-ERB α Controls Circadian Transcription within the Positive Limb of the Mammalian Circadian Oscillator. *Cell*, 110, pp. 251–260.
- Rajaratnam, S.M. & Arendt, J. (2001). Health in a 24-h society. *Lancet*, 358(9286), pp. 999–1005.
- Randler, C., Fontius, I. & Vollmer, C. (2012). Delayed weekend sleep pattern in German infants and children aged 0-6 years. *Biological Rhythm Research*, 43(3), pp. 225–234.
- Rechtschaffen, A. & Kales, A. (1968). *A manual of standardized terminology, techniques and scoring*

- system for sleep stages of human subjects*. Technical report.
- Recio, J., Míguez, J.M., Buxton, O.M. & Challet, E. (1997). Synchronizing circadian rhythms in early infancy. *Medical hypotheses*, 49(3), pp. 229–34.
- Reppert, S., Godson, C., Mahle, C., Weaver, D., Slangenaupt, S. & Gusella, J. (1995). Molecular characterization of a second melatonin receptor expressed in human retina and brain: the Mel1b melatonin receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(19), pp. 8734–8.
- Roenneberg, T., Kuehne, T., Pramstaller, P.P., Ricken, J., Havel, M., Guth, A. & Mewes, M. (2004). A marker for the end of adolescence. *Current biology : CB*, 14(24), pp. R1038–9.
- Rogers, N.L., Dorrian, J. & Dinges, D.F. (2003). SLEEP, WAKING AND NEUROBEHAVIOURAL PERFORMANCE. *Frontiers in Bioscience*, 8, pp. 1056–1067.
- Rosenwasser, A.M. (2009). Functional neuroanatomy of sleep and circadian rhythms. *Brain research reviews*, 61(2), pp. 281–306.
- Russo, P.M., Bruni, O., Lucidi, F., Ferri, R. & Violani, C. (2007). Sleep habits and circadian preference in Italian children and adolescents. *Journal of sleep research*, 16(2), pp. 163–9.
- Sadeh, A., Mindell, J.a., Luedtke, K. & Wiegand, B. (2009b). Sleep and sleep ecology in the first 3 years: a web-based study. *Journal of sleep research*, 18(1), pp. 60–73.
- Sakurai, T., Nagata, R., Yamanaka, A., Kawamura, H., Tsujino, N., Muraki, Y., Kageyama, H., Kunita, S., Takahashi, S., Goto, K., Koyama, Y., Shioda, S. & Yanagisawa, M. (2005). Input of orexin/hypocretin neurons revealed by a genetically encoded tracer in mice. *Neuron*, 46(2), pp. 297–308.
- Saper, C.B., Chou, T.C. & Scammell, T.E. (2001). The sleep switch: hypothalamic control of sleep and wakefulness. *Trends in neurosciences*, 24(12), pp. 726–31.
- Saper, C.B., Scammell, T.E. & Lu, J. (2005b). Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. *Nature*, 437(7063), pp. 1257–63.
- Sastre, J.P., Buda, C., Kitahama, K. & Jouvet, M. (1996). Importance of the ventrolateral region of the periaqueductal gray and adjacent tegmentum in the control of paradoxical sleep as studied by muscimol microinjections in the cat. *Neuroscience*, 74(2), pp. 415–26.
- Sato, T.K., Panda, S., Miraglia, L.J., Reyes, T.M., Rudic, R.D., McNamara, P., Naik, K.a., FitzGerald, G.a., Kay, S.a. & Hogenesch, J.B. (2004). A functional genomics strategy reveals Rora as a component of the mammalian circadian clock. *Neuron*, 43(4), pp. 527–37.
- Scammell, T.E., Gerashchenko, D.Y., Mochizuki, T., McCarthy, M.T., Estabrooke, I.V., Sears, C.a., Saper, C.B., Urade, Y. & Hayaishi, O. (2001). An adenosine A2a agonist increases sleep and induces Fos in ventrolateral preoptic neurons. *Neuroscience*, 107(4), pp. 653–63.
- Scher, A., Hall, W.a., Zaidman-Zait, A. & Weinberg, J. (2010). Sleep quality, cortisol levels, and behavioral regulation in toddlers. *Developmental psychobiology*, 52(1), pp. 44–53.
- Schmidt, C., Collette, F., Cajochen, C. & Peigneux, P. (2007). A time to think: circadian rhythms in human cognition. *Cognitive neuropsychology*, 24(7), pp. 755–89.
- Sharkey, K.M., Fogg, L.F. & Eastman, C.I. (2001). Effects of melatonin administration on daytime sleep after simulated night shift work. *Journal of Sleep Research*, 10(3), pp. 181–192.
- Sherin, J.E., Elmquist, J.K., Torrealba, F. & Saper, C.B. (1998). Innervation of histaminergic tuberomammillary neurons by GABAergic and galaninergic neurons in the ventrolateral preoptic nucleus of the rat. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 18(12), pp. 4705–21.
- Sherin, J.E., Shiromani, P.J., McCarley, R.W. & Saper, C.B. (1996). Activation of ventrolateral preoptic neurons during sleep. *Science (New York, N.Y.)*, 271(5246), pp. 216–9.
- Shigeyoshi, Y., Taguchi, K., Yamamoto, S., Takekida, S., Yan, L., Tei, H., Moriya, T., Shibata, S., Loros, J.J., Dunlap, J.C. & Okamura, H. (1997). Light-induced resetting of a mammalian circadian clock is

- associated with rapid induction of the mPer1 transcript. *Cell*, 91(7), pp. 1043–53.
- Shimada, M., Takahashi, K., Segawa, M., Higurashi, M., Samejim, M. & Horiuchi, K. (1999). Emerging and entraining patterns of the sleep-wake rhythm in preterm and term infants. *Brain & development*, 21(7), pp. 468–73.
- Silva, E.J., Wang, W., Ronda, J.M., Wyatt, J.K. & Duffy, J.F. (2010). Circadian and wake-dependent influences on subjective sleepiness, cognitive throughput, and reaction time performance in older and young adults. *Sleep*, 33(4), pp. 481–90.
- Simpkin, C.T., Jenni, O.G., Carskadon, M.a., Wright, K.P., Akacem, L.D., Garlo, K.G. & Lebourgeois, M.K. (2014). Chronotype is associated with the timing of the circadian clock and sleep in toddlers. *Journal of sleep research*.
- Sisk, C.L. & Zehr, J.L. (2005). Pubertal hormones organize the adolescent brain and behavior. *Frontiers in neuroendocrinology*, 26(3-4), pp. 163–74.
- Sládek, M., Sumová, A., Kováčiková, Z., Bendová, Z., Laurinová, K. & Illnerová, H. (2004). Insight into molecular core clock mechanism of embryonic and early postnatal rat suprachiasmatic nucleus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(16), pp. 6231–6.
- Slominski, A., Pisarchik, A., Semak, I., Sweatman, T., Wortsman, J., Szczesniewski, A., Slugocki, G., McNulty, J., Kauser, S., Tobin, D.J., Jing, C. & Johansson, O. (2002). Serotonergic and melatonergic systems are fully expressed in human skin. *The FASEB journal*, 16(8), pp. 896–898.
- Speckmann, E.J. & Elger, C.E. (2005). Introduction to the Neurophysiological Basis of the EEG and DC Potentials. In: *ELECTROENCEPHALOGRAPHY. BASIC PRINCIPLES, CLINICAL APPLICATIONS AND RELETED FIELDS*, chapter 2, Lippincott Williams & Wilkins, 5th edition, pp. 12–30.
- Strecker, R.E., Morairty, S., Thakkar, M.M., Porkka-Heiskanen, T., Basheer, R., Dauphin, L.J., Rainnie, D.G., Portas, C.M., Greene, R.W. & McCarley, R.W. (2000). Adenosinergic modulation of basal forebrain and preoptic/anterior hypothalamic neuronal activity in the control of behavioral state. *Behavioural brain research*, 115(2), pp. 183–204.
- Sumová, a., Bendová, Z., Sládek, M., El-Hennamy, R., MatejLŽ, K., Polidarová, L., Sosniyenko, S. & Illnerová, H. (2008). Circadian molecular clocks tick along ontogenesis. *Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*, 57 Suppl 3, pp. S139–48.
- Suntsova, N., Szymusiak, R., Alam, M.N., Guzman-Marin, R. & McGinty, D. (2002). Sleep-waking discharge patterns of median preoptic nucleus neurons in rats. *The Journal of Physiology*, 543(2), pp. 665–677.
- Thorleifsdottir, B., Björnsson, J.K., Benediktsdottir, B., Gislason, T. & Kristbjarnarson, H. (2002). Sleep and sleep habits from childhood to young adulthood over a 10-year period. *Journal of psychosomatic research*, 53(1), pp. 529–37.
- Trávníčková-Bendová, Z., Cermakian, N., Reppert, S.M. & Sassone-Corsi, P. (2002). Bimodal regulation of mPeriod promoters by CREB-dependent signaling and CLOCK/BMAL1 activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(11), pp. 7728–33.
- Van Dongen, H.P.a. & Dinges, D.F. (2003). Investigating the interaction between the homeostatic and circadian processes of sleep-wake regulation for the prediction of waking neurobehavioural performance. *Journal of sleep research*, 12(3), pp. 181–7.
- Van Dongen, H.P., Rogers, N.L. & Dinges, D.F. (2003). Sleep debt: Theoretical and empirical issues. *Sleep and Biological Rhythms*, 1(1), pp. 5–13.
- van Esseveldt, K.E., Lehman, M.N. & Boer, G.J. (2000). The suprachiasmatic nucleus and the circadian time-keeping system revisited. *Brain research reviews*, 33(1), pp. 34–77.
- Vaněček, J. & Watanabe, K. (1998). Melatonin inhibits the increase of cyclic AMP in rat suprachiasmatic neurons induced by vasoactive intestinal peptide. *Neuroscience letters*, 252(1), pp. 21–4.
- Wada, K., Krejci, M., Ohira, Y., Nakade, M., Takeuchi, H. & Harada, T. (2009). Comparative study on

- circadian typology and sleep habits of Japanese and Czech infants aged 0-8 years. *Sleep and Biological Rhythms*, 7(3), pp. 218–221.
- Wake, M., Morton-Allen, E., Poulakis, Z., Hiscock, H., Gallagher, S. & Oberklaid, F. (2006). Prevalence, stability, and outcomes of cry-fuss and sleep problems in the first 2 years of life: prospective community-based study. *Pediatrics*, 117(3), pp. 836–42.
- Welsh, D.K., Logothetis, D.E., Meister, M. & Reppert, S.M. (1995). Individual neurons dissociated from rat suprachiasmatic nucleus express independently phased circadian firing rhythms. *Neuron*, 14(4), pp. 697–706.
- Welsh, D.K., Takahashi, J.S. & Kay, S.a. (2010). Suprachiasmatic nucleus: cell autonomy and network properties. *Annual review of physiology*, 72, pp. 551–77.
- Wright, K.P., Hughes, R.J., Kronauer, R.E., Dijk, D.J. & Czeisler, C.a. (2001). Intrinsic near-24-h pacemaker period determines limits of circadian entrainment to a weak synchronizer in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(24), pp. 14027–32.
- Wyatt, J.K., Cecco, A.R.d., Czeisler, C.A. & Dijk, D.j. (1999). Circadian temperature and melatonin rhythms, sleep, and neurobehavioral function in humans living on a 20-h day. *The American journal of physiology*, 277(4 Pt 2), pp. R1152–R1163.
- Yamaguchi, S., Isejima, H., Matsuo, T., Okura, R., Yagita, K., Kobayashi, M. & Okamura, H. (2003). Synchronization of cellular clocks in the suprachiasmatic nucleus. *Science (New York, N.Y.)*, 302(5649), pp. 1408–12.
- Yamazaki, S., Numano, R., Abe, M., Hida, a., Takahashi, R., Ueda, M., Block, G.D., Sakaki, Y., Menaker, M. & Tei, H. (2000). Resetting central and peripheral circadian oscillators in transgenic rats. *Science (New York, N.Y.)*, 288(5466), pp. 682–5.
- Yoo, S.H., Yamazaki, S., Lowrey, P.L., Shimomura, K., Ko, C.H., Buhr, E.D., Siepkka, S.M., Hong, H.K., Oh, W.J., Yoo, O.J., Menaker, M. & Takahashi, J.S. (2004). PERIOD2::LUCIFERASE real-time reporting of circadian dynamics reveals persistent circadian oscillations in mouse peripheral tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(15), pp. 5339–46.
- Zeitler, J.M., Daniels, J.E., Duffy, J.F., Klerman, E.B., Shanahan, T.L., Dijk, D.j. & Czeisler, C.A. (1999). Do Plasma Melatonin Concentration Decline with Age? *The American Journal of Medicinejournal of Medicine*, 107, pp. 432–436.