

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Lucie Pařezová

Fotoperiodismus a hibernace

Photoperiodism and hibernation

Bakalářská práce

Školitel: doc. RNDr. Zdeňka Bendová, Ph.D.

Praha, 2016

Poděkování

Ráda bych poděkovala své školitelce doc. RNDr. Zdeňce Bendové, Ph.D. za její rady, pozitivní přístup a čas, který mi věnovala. Dále také děkuji své rodině za velikou podporu během celého studia.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou 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, 11. 8. 2016

.....
Podpis

Abstrakt

Mnoho organismů žijících v sezónním prostředí dokáže využívat roční změny délky dne k načasování jejich sezónních reakcí, jako je reprodukce, migrace či hibernace. Hibernace živočichům umožňuje přežívat náročná období spojená zejména s nízkou okolní teplotou a nedostatkem potravních zdrojů. Tato adaptace vyžaduje značné množství fyziologických, morfologických i behaviorálních změn, z nichž některé trvají delší dobu, proto je jejich správné načasování zcela zásadní. Pro většinu hibernantů v temperátních oblastech je nejspolehlivějším signálem pro zahájení těchto změn zkracující se fotoperioda. Tato práce popisuje převod fotoperiodické informace do melatoninového signálu, jeho působení v pars tuberalis a význam této struktury v sezónní fyziologii. Detailněji je zde popsána hibernace a v poslední kapitole je krátce zmíněn fotoperiodismus i nehibernujících organismů.

Klíčová slova: fotoperioda, fotoperiodismus, hibernace, cirkanuální rytmy, pars tuberalis

Abstract

Many organisms living in seasonal environments use annual changes in the length of the day for timing of their responses, such as reproduction, migration or hibernation. Hibernation allows animals to survive difficult periods associated particularly with cold temperatures and lack of food resources. This adaptation requires many physiological, morphological and behavioral changes. Some of these changes take longer, so their right timing is crucial. For most hibernators in temperate regions shortening of the photoperiod is the most reliable signal for initiation of these changes. This work describes the transduction of photoperiodic information to the melatonin signal, its effects in the pars tuberalis and the significance of this structure in seasonal physiology. A more detailed description is devoted to hibernation, and in the last chapter there is briefly mentioned photoperiodism in nonhibernating organisms.

Key words: photoperiod, photoperiodism, hibernation, circannual rhythms, pars tuberalis

Seznam použitých zkratk

5-HT	5-hydroxytryptamin
A ₁ R	adenosinový A ₁ receptor
AANAT	arylalkylamin N-acetyltransferáza
Abat	4-aminobutyrate aminotransferáza
AgRP	agouti-related protein
ARC	nucleus arcuatus
ATP	adenosintrifosfát
AVP	arginin vasopresin
BAT	hnědá tuková tkáň
Bmal1	brain and muscle Amt-like protein 1
cAMP	cyklický adenosinmonofosfát
CART	cocaine and amphetamine regulated transcript
Clock	circadian locomotor output cycles kaput
CNS	centrální nervový systém
CPT1	karnitin-palmitoyltransferáza 1
CRBP2	cellular retinoic acid-binding protein 2
Cry1,2	cryptochrom 1, 2
CSF	cerebrospinální tekutina
DADLE	[D-Ala ² , D-Leu ⁵]-enkephalin
DIO2, DIO3	deiodinázy typu II a III
DMN	dorsomediální jádro
dmpARC	dorsomediální posteriorní nucleus arcuatus
dmSCN	dorsomediální suprachiasmatické jádro
EYA3	eyes absent 3
FABP	fatty-acid-binding protein
FGF21	růstový faktor fibroblastů 21
FXR	farnesoidní receptor X
GABA	kyselina γ -aminomáselná
GnRH	gonadotropin uvolňující hormon
GPR54	G protein-coupled receptor-54

H _{1,2,3}	histaminový receptor 1, 2, 3
HIT	hibernation induction trigger
HMGCS2	hydroxymethylglutaryl-CoA syntáza
HP	hibernation specific protein
CHGA	chromogranin A
ICV	intracerebroventrikulární
iNTS	intermediální nucleus tractus solitarii
ipRGCs	intrinsically photosensitive retinal ganglion cells
LH	laterální hypothalamus
LXR	jaterní receptor X
MCT1	monokarboxylový transportér 1
MK	mastné kyseliny
MT _{1,2,3}	melatoninový receptor 1, 2, 3
NMDA	N-methyl-D-aspartát
NPY	neuropeptid Y
PACAP	pituitary adenylate cyclase-activating polypeptid
PDK4	pyruvátdehydrogenáza kináza 4
Per1	period 1
PGC-1	PPAR γ koaktivátor-1
POA	preoptická oblast
POMC	proopiomelanokortin
PPAR	receptory aktivované proliferátory peroxizomů
PT	pars tuberalis
PUFA	polynenasycené mastné kyseliny
PVN	paraventriculární jádro
RA	kyselina retinová
RAR	retinoic acid receptor
RF-amid	arginin-fenylalanin-amid
RFRP-3	RF-amid related peptide 3
RHT	retinohypothalamický trakt
ROR α	retinoic acid-related orphan receptor alpha

RPa	raphe pallidus
rRPA	rostrální raphe pallidus
RXR	retinoid X receptor
RZR	retinoid Z receptor
rT3	reverzní trijodthyronin
SCN	suprachiasmatické jádro
SERCA 2a	sarkoplazmatická/endoplazmatická Ca ²⁺ ATPáza 2a
SIRT 1, 3	sirtuin 1, 3
SIX1	sine oculis homeobox homolog 1
SNS	sympatický nervový systém
T2	3,3'-dijodthyronin
T3	trijodthyronin
T4	thyroxin
TEF	thyrotroph embryonic factor
TH	thyroidní hormon
TSH	tyreotropní hormon
UCP1	rozpřahující protein 1
VIP	vasoaktivní intestinální peptid
vISCN	ventrolaterální suprachiasmatické jádro
VMN	ventromediální jádro
WAT	bílá tuková tkáň

Obsah

1	Úvod.....	1
2	Torpor u endotermů.....	2
2.1	Denní torpor	2
2.2	Sezónní torpor	2
2.2.1	Estivace	2
2.2.2	Hibernace.....	3
3	Fotoperiodismus a cirkanuální rytmy	3
3.1	Transdukce světla do fotoperiodického signálu	4
3.2	Převod fotoperiodické informace do sezónní fyziologie	5
3.3	Cirkanuální pacemaker	8
4	Prehibernační a hibernační období	9
4.1	Cirkanuální kontrola hibernace pomocí HP komplexu	9
4.2	Prehibernační období.....	10
4.3	Hibernace.....	13
4.3.1	Navození hibernace a hibernační stav	14
4.3.2	Periodická probouzení	18
4.3.3	Fungování SCN a cirkadiálních hodin během hibernace.....	19
4.3.4	Ukončení hibernace	20
5	Fotoperiodismus a další organismy	21
6	Závěr.....	22
7	Seznam použité literatury	23

1 ÚVOD

Obíháním Země kolem Slunce dochází k střídání ročních období a tím k sezónním změnám prostředí. Během evoluce se tak u mnoha organismů vyvinuly endogenní mechanismy, které jim umožňují předvídat tyto periodické změny a dle toho načasovat sezónní procesy. Vnitřní časovací mechanismy se liší mezi druhy, v některých případech dokonce umožňují přetrvávání ročních rytmů i v neměnném prostředí. V přirozených podmínkách ale využívají všechny tyto mechanismy vnější signály, aby zajistily synchronizaci s roční dobou. Většina organismů využívá jako hlavní synchronizátor (tzv. Zeitgeber) délku dne, tj. fotoperiodu. Na synchronizaci sezónních rytmů se mohou podílet i další environmentální faktory, jako například okolní teplota či dostupnost potravy, ale ty se na rozdíl od fotoperiody mohou během jednotlivých let měnit a sezónní změny délky dne tak představují nejspolehlivějšího ukazatele roční doby.

Sezónní prostředí je charakteristické teplotními výkyvy a změnami v dostupnosti potravy. Sezónní živočichové tak využívají příznivá období, kdy mají dostatek potravních zdrojů, k energeticky nákladným procesům, jako je růst a reprodukce. Pro nepříznivá období je pak typický nedostatek potravy či vody, nízká nebo naopak extrémně vysoká teplota a sucho. Živočichové si vyvinuli některé adaptace, které jim umožňují vyrovnat se s těmito náročnými podmínkami. Některé druhy využívají například migraci, ale jedinci, kteří nepříznivým podmínkám prostředí nemohou uniknout tímto způsobem, musejí využívat jiné strategie. Mnoho endotermů je schopno v reakci na vnější stresory upadnout do hypotermního a hypometabolického stavu, torporu, ve kterém mohou setrvat do doby, než pro ně nastane příznivější období. Nejextrémnější formou torporu je hibernace, která se typicky objevuje během zimy.

Cílem této práce je popsat mechanismy savčí hibernace a její ovlivnění vnějšími světelnými signály.

2 TORPOR U ENDOTERMŮ

Mnoho endotermních druhů je schopno vyhnout se nepříznivým podmínkám prostředí upadnutím do torporu, který jim umožňuje ušetřit značné množství energie, kterou by museli vynaložit na kompenzační fyziologické procesy. Torpor je fyziologická adaptace, která je charakteristická kontrolovaným snížením metabolické aktivity, tělesné teploty, srdeční a dechové frekvence a dalších fyziologických funkcí. Torpor využívají různé druhy živočichů ze všech klimatických oblastí, včetně tropů (Schmid & Speakman, 2009). Vyskytuje se jako denní forma nebo sezónní, do které patří hibernace a estivace. Denní torpor, hibernace i estivace jsou založeny na podobných fyziologických mechanismech, liší se hlavně délkou torporu (Wilz & Heldmaier, 2000).

2.1 DENNÍ TORPOR

Do denního torporu mohou organismy upadat v průběhu celého roku, nezávisle na období, ačkoli jeho výskyt v zimě, případně v létě u živočichů z teplých oblastí, je častější. Spousta malých savců a ptáků do něj vstupuje během klidové fáze jejich denního rytmu, aby snížili své obrovské energetické náklady spojené s vysokou intenzitou metabolismu. Ta je dána snahou minimalizovat tepelné ztráty, které jsou u malých endotermů vyšší v důsledku většího relativního povrchu těla. Torpor jim tak umožňuje vypořádat se s těmito náklady v době, kdy je nedostatek potravy. Během denního torporu klesá tělesná teplota ptáků i savců obvykle na 10-25°C (Melvin & Andrews, 2010), ale například kolibřík může během nočního torporu snížit svou teplotu i pod 10°C, zatímco větší druhy živočichů jí mohou udržovat lehce pod 30°C (Geiser, 2013). Denní torpor netrvá déle než 24 hodin, čímž se zásadně liší od hibernace a estivace. Vzhledem k tomuto krátkému trvání při něm nedochází k stejně velkému potlačení fyziologických procesů a metabolismu jako v případě sezónního torporu, ale i tak je pokles výrazný, například aktivita metabolismu může být snížena na asi 35% bazální hodnoty (Ruf & Geiser, 2015).

2.2 SEZÓNNÍ TORPOR

Sezónním výkyvům v teplotě, dostupnosti potravy a dalších faktorech prostředí se někteří živočichové přizpůsobují upadnutím do sezónního torporu, buď hibernace, nebo estivace.

2.2.1 Estivace

Estivace je fyziologický stav, který je u živočichů navozen hlavně v reakci na vysoké teploty a nedostatek vody, takže je široce využívána zejména v aridních oblastech. Estivace může trvat několik dnů až týdnů, dochází při ní k výraznému snížení metabolismu, tělesná teplota klesá pod 30°C, zpomaluje se dýchání, srdeční činnost a další fyziologické pochody (Melvin & Andrews, 2010).

2.2.2 Hibernace

Hibernace je jednou z neúčinnějších strategií, která živočichům umožňuje výrazně snížit energetický výdej v obdobích chladu a nedostatku potravy. Vstupu do hibernace předchází pečlivé přípravy, zejména potlačení pohlavních funkcí nebo vytvoření dostatečných energetických zásob, především v podobě tuku, který během hibernace představuje primární zdroj energie (Andrews, 2004). Během hibernace může být intenzita metabolismu redukována o více než 95% (Geiser, 2004). V důsledku toho výrazně klesá tělesná teplota, u většiny temperátních druhů živočichů obvykle na 2-10°C (Carey et al., 2003). Srdeční i dechová frekvence u některých hibernantů klesá až na setinu aktivní úrovně (Ignat'ev et al., 2001; Ruf & Geiser, 2015).

Hibernace není kontinuální, je charakteristická střídáním dlouhodobějších hibernačních period (tzv. hibernačních boutů) a krátkodobých (< 24h) návratů do normotermního stavu. Jednotlivé fáze jsou podrobněji probrány v kapitole 4.

Hibernace je známá u různých druhů savců ze skupin Monotremata, Marsupialia i Placentalia, ale jen u jednoho ptačího druhu, lelka amerického (*Phalaenoptilus nuttallii*) (Geiser & Ruf, 1995).

3 FOTOPERIODISMUS A CIRKANUÁLNÍ RYTMY

Vstup do hibernace vyžaduje značné přípravy organismu, které trvají i několik týdnů. Vhodné načasování těchto příprav je tedy v sezónním prostředí zcela zásadní. Hibernanti, ale i další živočichové, kteří vykazují sezónní změny v chování, si proto vyvinuli mechanismy, které jim umožňují předvídat příchod náročného období podle specifických signálů vnějšího prostředí a přesně načasovat příslušné fyziologické i behaviorální reakce. Nejspolehlivějším environmentálním signálem změny roční doby je délka dne, tzv. fotoperioda, na jejíž změnu jsou citliví živočichové schopni zareagovat sezónním přizpůsobením své fyziologie. Tato schopnost se označuje jako fotoperiodismus (Walton et al., 2011). U některých druhů, zejména křečků, je hibernace spuštěna v přímé reakci na krátkou fotoperiodu, klesající teplotu a nedostatek potravy či vody. Taková zvířata se označují jako fakultativní hibernanti (Florant & Healy, 2012). Druhou skupinou jsou pak obligatorní hibernanti, např. zemní veverky nebo svišti, kteří do hibernace vstupují i bez přítomnosti vnějších signálů (Russell et al., 2010; Ueda & Ibuka, 1995). U těchto druhů je hibernace řízena endogenními cirkanuálními rytmy, nicméně i ty využívají změny ve fotoperiodě pro svou synchronizaci s vnějším prostředím (Hiebert et al., 2000).

Cirkanuální rytmy řídí kromě hibernace i mnoho dalších sezónních procesů, jako je migrace, reprodukční aktivita, sezónní změny hmotnosti nebo růstu srsti (Wood & Loudon, 2014). Jsou to vrozené rytmy, které volně běží s periodou přibližně 12 měsíců a přetrvávají i v neperiodickém prostředí (Lincoln et al., 2006). V přírodě jsou synchronizovány geofyzikálními cykly tak, aby se jejich perioda rovnala délce zemského roku.

U hibernantů se regulace cirkanuálním systémem uplatňuje zejména při ukončení hibernace. Mnoho jich využívá taková hibernakula, do kterých neproniká světlo a nemají tak přístup k fotoperiodické informaci. Proto jsou závislí na cirkanuálních hodinách, které jim zajistí, že k ukončení hibernace a opuštění hibernakula dojde ve správný čas, tzn. s dostatečným předstihem pro úspěšnou reprodukci a zároveň dostatečně pozdě na to, aby se vyhnuli možným nepříznivým podmínkám na konci zimy a začátku jara. K synchronizaci těchto hodin, k níž stačí pouze část ročního fotoperiodického cyklu (Monecke & Wollnick, 2004), dochází během jejich aktivního období (Hut et al., 2014).

3.1 TRANSDUKCE SVĚTLA DO FOTOPERIODICKÉHO SIGNÁLU

Savci vnímají světlo výhradně prostřednictvím sítnice, ve které se nacházejí fotoreceptivní buňky- tyčinky a čípky, ale v převodu světelné informace za účelem zprostředkování informace o denní době jsou pravděpodobně klíčové fotosenzitivní gangliové buňky sítnice, tzv. ipRGCs (intrinsically photosensitive retinal ganglion cells), které obsahují fotopigment melanopsin. Tyto buňky tvoří asi 1-2% gangliových buněk sítnice (Hattar et al., 2002) a jsou dostatečné pro fotickou synchronizaci v případě poškození tyčinek a čípků (Coomans et al., 2014). Signál z ipRGCs je veden monosynaptickou dráhou, tzv. retinohypothalamickým traktem (RHT), do ventrolaterální části suprachiasmatického jádra (Coomans et al., 2014).

Suprachiasmatická jádra (SCN) jsou párová jádra hypothalamu, která se nacházejí po obou stranách třetí mozkové komory těsně nad křížením optických nervů. Tato struktura je řídicím centrem savčích biologických hodin, které generují a koordinují fyziologické, endokrinní a behaviorální cirkadiánní rytmy (Hofman, 2004). Anatomicky i funkčně lze SCN rozdělit na část ventrolaterální (vlSCN) a dorsomediální (dmSCN). Ventrolaterální oblast obsahuje neurony, které syntetizují zejména vasoaktivní intestinální peptid (VIP), zatímco neurony v dorsomediální části obsahují arginin vasopresin (AVP), jehož exprese vykazuje cirkadiánní rytmicitu i ve stálé tmě (Moore et al., 2002). Syntéza VIP tento endogenní rytmus v konstantních světelných podmínkách nevykazuje (Duncan et al., 1995). vlSCN získává světelné informace jak přímo, prostřednictvím RHT, tak nepřímo, prostřednictvím dráhy vedoucí ze sítnice do thalamického intergenikulárního listku, odkud pokračuje do vlSCN jako genikulohypothalamický trakt (Hofman, 2004). DmSCN nemá přímý světelný vstup a jeho synchronizace s vnějším rytmem je tak závislá na projekcích z vlSCN (Simonneaux & Ribelayga, 2003).

Po světelném impulzu se z nervových zakončení RHT na synapsích s neurony vlSCN uvolňuje glutamát spolu s neuromodulátorem PACAP (pituitary adenylate cyclase activating peptide), který účinky glutamátu zesiluje (Morin & Allen, 2006). Glutamát vazbou na N-methyl D-aspartátové (NMDA) receptory na postsynaptické membráně zvyšuje intracelulární koncentraci Ca^{2+} , který spouští

signální kaskádu vedoucí k indukci transkripce hodinových genů *Per* (Hastings & Maywood, 2000). Změnou exprese těchto genů dochází k synchronizaci cirkadiálního oscilátoru s vnějším dnem.

Informace o délce dne, tedy o fotoperiodě, vytvořená v SCN, je dále přenášena z dmSCN polysynaptickou eferentní dráhou, která vede přes paraventriculární jádro hypothalamu (PVN), intermediolaterální sloupec hrudní části míchy do horního cervikálního ganglia a odtud postgangliovými noradrenergními vlákny do epifyzy (Coomans et al., 2014). Noradrenalin, který je v noci uvolňován z těchto sympatických nervových zakončení, stimuluje postsynaptické β_1 -adrenergní receptory na membránách pinealocytů, což vede k aktivaci adenylátcyklázy a zvýšení intracelulární hladiny cyklického adenosinmonofosfátu (cAMP). cAMP signální kaskáda indukuje transkripci genu *Aanat* (Simonneaux & Ribelayga, 2003), jehož produkt, arylalkylamin N-acetyltransferáza (AANAT), je klíčovým enzymem pro syntézu melatoninu. Hladiny tohoto enzymu vykazují výrazné cirkadiální oscilace s nejvyššími hodnotami v noci a minimálními během dne (Ganguly et al., 2002), což vede k rytmické syntéze melatoninu. Fotoperiodická informace je tak převráceně zakódována v délce noční sekrece melatoninu, který organismu slouží jako endokrinní ukazatel nejen denní doby, ale i ročního období (Illnerová & Vaněček, 1980).

3.2 PŘEVOD FOTOPERIODICKÉ INFORMACE DO SEZÓNÍ FYZIOLOGIE

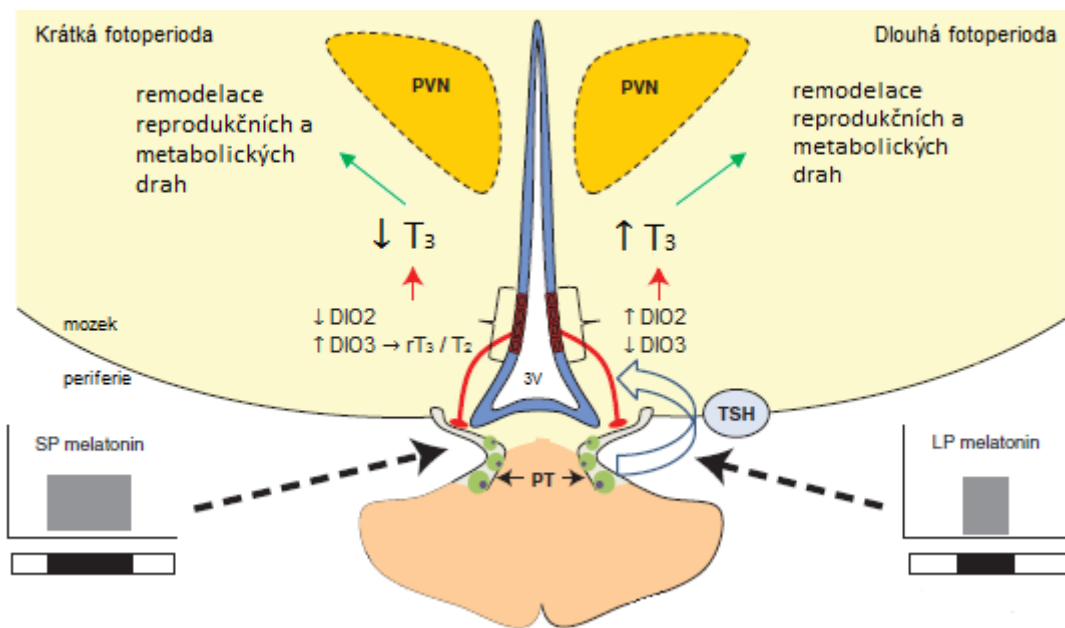
Hlavní součástí neuroendokrinního systému, který umožňuje savcům reagovat na roční změny ve fotoperiodě adaptivními fyziologickými změnami, je epifyza. Jak již bylo zmíněno, její hormon melatonin poskytuje informace o ročním období, protože doba jeho noční syntézy se liší v závislosti na fotoperiodě. V létě, kdy jsou dlouhé dny, je jeho působení krátké, zatímco v zimě, kdy se noc prodlužuje, trvá jeho signalizace výrazně déle (Hofman, 2004).

K dekódování melatoninového signálu dochází ve specializovaných „kalendářních“ buňkách exprimujících vysokoafinitní melatoninové receptory, které jsou schopny zaznamenávat změny v délce tohoto signálu a generovat dlouhodobé fyziologické a behaviorální reakce (Lincoln et al., 2003). Vysokoafinitní melatoninové receptory MT_1 a MT_2 jsou membránové receptory spřažené s G-proteiny (Hazlerigg & Loudon, 2008). Dalším vazebným místem je nízkoafinitní MT_3 , který byl později identifikován jako cytosolický enzym chinon reduktáza 2 (Nosjean et al., 2000). Melatonin může díky své lipofilní povaze procházet přes buněčnou membránu a působit tak přímo v cytoplazmě nebo se vázat na jaderné receptory rodiny $ROR\alpha$ (z angl. retinoic acid-related orphan receptor alpha)/RZR (retinoid Z receptor) (Becker-André et al., 1994), nicméně tato vazebná místa fotoperiodický účinek melatoninu zřejmě nezprostředkovávají. Vysokoafinitní melatoninové receptory jsou exprimovány v různých částech centrálního nervového systému (CNS) i v periferních orgánech (Dubocovich & Markowska, 2005), přičemž u savců je vysoká hustota těchto receptorů zejména v pars tuberalis (PT), SCN, dorsomediálním (DMN) a paraventriculárním (PVN) jádře hypothalamu či v oblasti eminentia

mediana (shrnuto v Walton et al., 2011). Přítomnost MT_1 a MT_2 na SCN neuronech značí, že melatonin zpětnovazebně ovlivňuje funkci cirkadiálního pacemakeru (von Gall et al., 2002).

Klíčovou strukturou pro převod melatoninového signálu do sezónní fyziologie je pravděpodobně PT, část adenohipofýzy obklopující infundibulum (Bechtold & Loudon, 2007). Melatonin se zde váže na MT_1 receptory na specializovaných buňkách, tzv. tyreotropních, které exprimují α i β podjednotku tyreotropního hormonu (TSH) (Nakane & Yoshimura, 2014).

TSH je v tyreotropních PT syntetizován ve vysokých hladinách při dlouhé fotoperiodě, zatímco při krátké je jeho syntéza výrazně snížena (Nakao et al., 2008). Tato fotoperiodická regulace je zprostředkována změnami exprese TSH β podjednotky, která je při krátké fotoperiodě, kdy je noční syntéza melatoninu vysoká, inhibována (Dardente et al., 2010). Opačně je tomu při dlouhé fotoperiodě a dochází k uvolňování TSH z PT (Obr. 1). TSH se váže na TSH receptory tancytů (Klosen et al., 2013), specializovaných gliových buněk ependymální vrstvy, které se nacházejí zejména na bázi třetí mozkové komory. Tancyty exprimují specifické enzymy deiodinázy typu II a III (DIO2 a DIO3), jejichž syntéza je regulována hladinami TSH (Dardente et al., 2014). DIO2, který konvertuje biologicky relativně neúčinný thyroxin (T4), hlavní cirkulující formu thyroïdního hormonu (TH), na aktivní trijodthyronin (T3) a zvyšuje tak lokální dostupnost TH v hypothalamu, vykazuje zvýšenou expresi v dlouhých dnech, zatímco DIO3, který konvertuje T4 na biologicky neaktivní reverzní trijodthyronin (rT3) a T3 na 3,3'-dijodthyronin (T2), převažuje v krátkých dnech (Dardente et al., 2014; Hazlerigg & Loudon, 2008). Existují druhové rozdíly v tom, zda je fotoperiodou řízena T3 inhibiční (DIO3) nebo T3 stimulační (DIO2) dráha. Například u křečka zlatého (*Mesocricetus auratus*) je nízké hladiny T3 při krátké fotoperiodě dosaženo sníženou expresí DIO2, zatímco u křečička džungarského (*Phodopus sungorus*) se exprese DIO2 s fotoperiodou nemění, ale dochází k výraznému zvýšení exprese DIO3 (Barrett et al., 2007). Dostupnost T3 se tak zdá být univerzální součástí sezónní neuroendokrinní regulace, ačkoli různé druhy si vyvinuly odlišné mechanismy k sezónním změnám jeho hladiny.



Obr. 1: Schematické znázornění fotoperiodické regulace TSH a jeho působení v hypothalamu. Délka noční syntézy melatoninu se liší v závislosti na fotoperiodě. Při krátké fotoperiodě (SP) je jeho signalizace dlouhá, zatímco v dlouhé fotoperiodě (LP) je jeho působení krátké. Melatonin vazbou na své receptory v pars tuberalis (PT) reguluje syntézu tyreotropního hormonu (TSH). V SP jí potlačuje, ale v LP je v důsledku krátkého působení melatoninu TSH syntetizován ve vysokých hladinách a dochází k jeho uvolňování z PT. TSH stimuluje v tancytech v oblasti třetí mozkové komory (3V) expresi deiodinázy typu II (DIO2), která vytváří trijodthyronin (T3) a zvyšuje tak jeho dostupnost v hypothalamu. To vede k ovlivnění dalších neuroendokrinních drah a navození dlouhodobé fyziologie. Potlačení syntézy TSH v SP má za následek sníženou expresi DIO2 a tudíž i sníženou lokální dostupnost T3, což opět ovlivňuje některé neuroendokrinní dráhy a navozuje krátkodobou fyziologii. DIO3- deiodináza typu III, rT3- reverzní trijodthyronin, T2- diiodthyronin, PVN- paraventriculární jádro; převzato z (Wood & Loudon, 2014), upraveno podle (Dardente et al., 2014).

Tancyty jsou důležitým převodním místem fotoperiodické informace do sezónní fyziologie, protože exprese řady genů, jako například již zmíněných *Dio2* a *Dio3*, se v nich mění v závislosti na délce dne (shrnutí v Bolborea & Dale, 2013). V těchto buňkách dochází k syntéze kyseliny retinové (RA), která se váže na jaderné receptory RAR (z angl. retinoic acid receptor) nebo RXR (retinoid X receptor) a může tak regulovat transkripci cílových genů, např. *Agrp* kódujícího orexigenní peptid AgRP (z angl. agouti- related protein) (Shearer et al., 2012, Stoney et al., 2016). Exprese mnoha složek RA signální dráhy je při krátké fotoperiodě výrazně nižší (Ross et al., 2004) shodně se sníženou TH signalizací, proto se předpokládá zapojení obou signálních drah v neuroendokrinním řízení sezónních fyziologických změn.

Hypothalamická TSH signalizace nicméně nezprostředkovává všechny sezónní změny. Nejlépe prozkoumaná funkce této signalizace je v regulaci sezónní reprodukce. Fotoperiodická regulace dostupnosti T3 v hypothalamu se zdá být stejná u všech druhů savců (shrnutí v Shinomiya et al., 2014), výsledná reakce se však výrazně liší v závislosti na délce březosti daného živočicha. Druhy s dlouhou březostí (např. ovce), které se množí na podzim, reagují na krátkou fotoperiodu rozvojem

pohlavních funkcí, zatímco u druhů s krátkou březostí (např. křečci) vyvolává působení krátké fotoperiody naopak regresi gonád a potlačení reprodukční aktivity (Hut et al., 2014; Sáenz de Miera et al., 2013). K rozmnožování u nich dochází až při dlouhé fotoperiodě. Obě skupiny tak rodí svá mláďata na jaře, kdy jsou nejvýhodnější podmínky pro jejich přežití.

3.3 CIRKANUÁLNÍ PACEMAKER

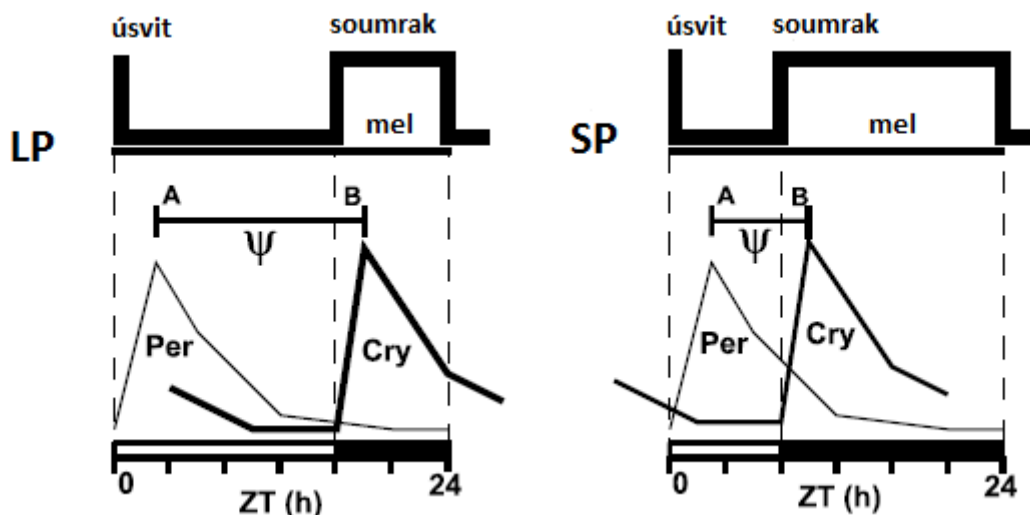
S rozvojem studia časových změn mnoha fyziologických funkcí animálních modelů chovaných v laboratorních podmínkách se čím dál častěji ukazuje, že mnohé funkce organismu si udržují svoji anuální periodicitu i v prostředí bez sezónních změn (Kenagy, 1981; Kondo et al., 2006; Lincoln et al., 2006; Pengelley & Fisher, 1963; Sáenz de Miera et al., 2013, 2014). Předpokládá se tedy, že v organismu existuje cirkanuální pacemaker, který, analogicky jako cirkadiánní pacemaker, generuje oscilace dle vrozeného kódu a nepotřebuje k udržení své nastavené periody ani změnu fotoperiody nebo teploty v průběhu roku. Zatím se přesně neví, které tkáně a buňky generují dlouhodobé rytmické procesy, nicméně řada výzkumů naznačuje, že primární strukturou zapojenou ve vytváření těchto rytmů by mohla být *pars tuberalis* (Sáenz de Miera et al., 2014; Wood et al., 2015). Dle výsledků nedávné studie v sobě mají tyretotropní buňky PT zabudovaný binární systém a mohou tak existovat ve dvou různých stavech, odrážejících buď dlouhou, nebo krátkou fotoperiodu (Wood et al., 2015). Tento model byl navržen na základě rozdílné exprese EYA3 (z angl. eyes absent 3) a chromograninu A (CHGA) při dané fotoperiodě.

EYA3 spolu s transkripčním faktorem SIX1 (sine oculis homeobox homolog 1) tvoří transkripční koaktivační komplex, který společně s transkripčním faktorem TEF (z angl. thyrotroph embryonic factor) indukuje expresi TSH β v tyretropech PT (Masumoto et al., 2010, Dardente et al., 2010). *Eya3* je jeden z cirkadiánně regulovaných genů a jeho exprese vrcholí, nezávisle na délce dne, 12h po začátku působení melatoninu. To znamená, že v krátkých dnech se tento vrchol objevuje v noci, kdy melatonin expresi EYA3 potlačuje, zatímco v dlouhých dnech dosahuje vrcholu exprese ráno, kdy je hladina melatoninu minimální (Dardente et al., 2010).

Naprostá většina tyretotropních buněk PT při krátké fotoperiodě exprimuje CHGA, zatímco při dlouhé je exprimován EYA3. Tyto buňky se tak mohou přepínat mezi krátkodenním (CHGA⁺) a dlouhodenním (EYA3⁺) stavem, přičemž jejich poměr určuje fázi cirkanuálního rytmu. Předpokládá se tedy, že tyretotropní buňky PT jsou centrálně zapojeny v generování cirkanuálních rytmů (Wood et al., 2015).

Součástí molekulárního mechanismu, který umožňuje v PT dekodovat melatoninový signál, jsou pravděpodobně hodinové geny. Například *Period (Per)* a *Cryptochrom (Cry)* jsou rozdílně exprimovány v PT v závislosti na působení melatoninového signálu. Zatímco na začátku noci rostoucí hladina melatoninu indukuje expresi *Cry*, klesající hladina k ránu naopak indukuje expresi *Per* (Dupré et al., 2008; Lincoln et al., 2002). Interval mezi *Per* a *Cry* se tak v PT mění s délkou dne a jejich

interakce by tudíž mohla být součástí mechanismu generujícího fotoperiodické reakce (Obr. 2) (Lincoln, 2006). Původně se předpokládalo zapojení těchto genů i ve vytváření cirkanuálních rytmů (Lincoln et al., 2003), což se ale díky následným pokusům jeví jako nepravděpodobné. U fotorefrakterních ovcí totiž profil melatoninu stále odráží aktuální fotoperiodu a exprese hodinových genů se tak v PT také nemění. Naproti tomu exprese TSH β a deiodinázového systému se naopak spontánně vrací do předchozího fyziologického stavu (Lincoln et al., 2005; Sáenz de Miera et al., 2013). Molekulární základ cirkanuálních rytmů je tedy stále neznámý.



Obr. 2: Model dekódování fotoperiodické informace (melatoninového signálu) v PT. Melatoninový signál je převeden do intervalu mezi vrcholy exprese hodinových genů *Per* (na počátku světelné fáze) a *Cry* (krátce po setmění). Tento interval (A-B, ψ) se mění v závislosti na fotoperiodě, v létě je delší a v zimě naopak kratší, proto bylo navrženo, že by interakce proteinů těchto genů mohla sloužit k dekódování fotoperiodické informace. LP- dlouhá fotoperioda, SP- krátká fotoperioda, mel- melatonin, ZT- zeitgeber time. Převzato a upraveno podle (Lincoln et al., 2003).

4 PREHIBERNAČNÍ A HIBERNAČNÍ OBDOBÍ

4.1 CIRKANUÁLNÍ KONTROLA HIBERNACE POMOCÍ HP KOMPLEXU

Přesné faktory, které řídí hibernaci a jsou pro ni zcela zásadní, zatím nebyly objeveny. Kondo & Kondo (1992) v krvi čipmanků našli tzv. hibernační proteinový komplex (HP komplex), který by mohl mozku poskytovat signály potřebné pro hibernaci.

HP komplex je tvořen čtyřmi proteiny, z nichž tři (HP20, HP25 a HP27) tvoří heterotrimerní komplex HP20c. Tento heterotrimer je v krvi spojen hydrofobní vazbou se čtvrtým proteinem HP55 (Kondo & Kondo, 1992). HP komplex je produkován v játrech a posléze vylučován do krve, odkud se aktivním transportem přes choroidální epitel dostává do cerebrospinální tekutiny (CSF) v mozku (Kondo, 2007).

Expres a transport HP komplexu jsou regulovány endogenním cirkunální rytmem a jeho koncentrace úzce souvisí s nástupem hibernace. Hladina HP komplexu pod kontrolou cirkunálního rytmu v krvi klesá ještě před vstupem do hibernace vlivem snížené exprese HP genů v játrech a zároveň jeho koncentrace roste v CSF v důsledku zvýšené transcytózy přes hematolickorovou bariéru (bariéra krev- CSF) (Kondo, 2007).

Aktivní složkou HP komplexu je pravděpodobně HP20c, který je v krvi interakcí s HP55 proteinem inhibován (Kondo & Kondo, 1992). Po transportu přes choroidální plexus dochází k jeho aktivaci disociací od HP55 (Kondo et al., 2006). Důležitost HP20c pro hibernaci byla prokázána podáním anti-HP20c protilátky, což mělo za následek přerušení nebo výrazné zkrácení doby hibernace (Kondo et al., 2006). Ačkoli přesná role tohoto komplexu nebyla zatím objasněna, předpokládá se, že jeho zvýšená hladina v mozku by mohla mít význam v buněčné adaptaci na snížený metabolismus a letální poškození vlivem nízkých teplot během hibernace (Kondo, 2007).

V nedávné době však byly HP geny objeveny i u nehibernujících živočichů, jako např. krav a ovcí, ale i u nich hladiny HP komplexu v CNS sezónně oscilují s dosažením nejvyšších hodnot v zimě. Na základě těchto zjištění se uvažuje, že by HP komplex mohl do CNS přinášet hormonální signál k regulaci sezónní fyziologie (Seldin et al., 2014).

4.2 PREHIBERNAČNÍ OBDOBÍ

Jednou z nejvýraznějších změn před vstupem do hibernace a zároveň pravděpodobně nezbytným předpokladem pro její navození u většiny druhů, je potlačení pohlavních funkcí (Pévet et al., 1990). To je zprostředkováno TSH signalizací. Sezónní změny v lokální koncentraci TSH/T3 v hypothalamu jsou přenášeny na neurony exprimující gonadotropin uvolňující hormon (GnRH) pravděpodobně prostřednictvím odlišné populace neuronů, která exprimuje dva arginin-fenylalanin (RF)-amid peptidy, konkrétně kisspeptin a RFRP-3 (z angl. RF-amid related peptide 3) (Sáenz de Miera et al., 2014). Fotoperioda prostřednictvím TSH/T3 řídí expresi *Kiss1* genu v mediobasálním hypothalamu (Revel et al., 2007), jehož produkt kisspeptin vazbou na GPR54 receptor (z angl. G protein-coupled receptor-54) na povrchu GnRH neuronů stimuluje sekreci GnRH a následnou produkci gonadotropinů (Smith et al., 2006). Expres kisspeptinu i RFRP-3, které ovlivňují osu hypothalamus-hypofýza-gonády, je u hibernujících živočichů krátkou fotoperiodou potlačena (Klosen et al., 2013). Zkracující se dny na podzim tak u nich vedou k výraznému snížení hladin gonadotropinů následovaného utlumením spermatogeneze a ovulace a značnou redukcí tvorby pohlavních hormonů, v důsledku čehož dochází k involuci gonád a přídatných pohlavních žláz (shrnuto v Revel et al., 2007).

Zásadním faktorem pro přežití hibernace jsou dostatečné energetické zásoby. Některé druhy (př. čipmankové, *Tamias spp.*) proto hromadí potravu ve svých hibernakulech, kterou se živí mezi jednotlivými hibernačními bouty (tzv. „food-storing“ druhy), zatímco většina ostatních hibernantů (př.

sysel zlatavý, *Callospermophilus lateralis*; svišť horský, *Marmota marmota*) podstupuje několik týdnů před hibernací období hyperfagie, kdy výrazně zvyšují příjem potravy za účelem vytvoření dostačujícího množství endogenních zásob, především ve formě tuku (tzv. „fat-storing“ druhy) (Humphries et al., 2003), což může vést až k téměř zdvojnásobení tělesné hmotnosti (Carey et al., 2003). Někteří živočichové ale mohou kombinovat obě tyto strategie (Humphries et al., 2003).

Neuroendokrinní dráhy a fyziologické mechanismy, které u hibernantů řídí sezónní změny hmotnosti a příjmu potravy, ještě nebyly zcela objasněny. V regulaci těchto procesů je zapojeno několik hypothalamických oblastí, jako např. ventromediální (VMN), dorsomediální jádro (DMN), nucleus arcuatus (ARC) či laterální hypothalamus (LH). Zejména v ARC se nacházejí neurony, které exprimují neuropeptidy buď orexigenní, tj. stimulující příjem potravy (neuropeptid Y, NPY; AgRP), nebo anorexigenní, tj. potlačující příjem potravy (proopiomelanokortin, POMC; cocaine and amphetamine regulated transcript, CART). Tyto neurony, které projikují do dalších jader, reagují na periferní signály související se stavem energetických zásob, jako leptin, ghrelin či inzulin, na jejichž základě je spuštěna příslušná behaviorální reakce. Výše zmíněné orexigenní a anorexigenní neuropeptidy nicméně v sezónní regulaci energetické homeostázy nejspíš zapojeny nejsou, protože u hibernantů nebyly pozorovány odpovídající sezónní změny jejich exprese (Schwartz et al., 2015) a pravděpodobně se tak účastní pouze krátkodobého řízení příjmu potravy (Ebling, 2015).

Sezónní variace hmotnosti jsou typické pro mnoho druhů a už několik dřívějších studií prokázalo zapojení fotoperiody a melatoninu v regulaci tohoto procesu (Wade & Bartness, 1984; Le Gouic et al., 1996; Nieminen et al., 2002). Jakým způsobem melatonin tyto změny zprostředkovává, se ale zatím neví. Jeho receptory se nacházejí v některých jádrech hypothalamu zapojených v řízení energetické rovnováhy, jejichž prostřednictvím by mohl modulovat aktivitu těchto jader (Bartness et al., 2001; Song & Bartness, 2001). Melatonin například působí nepřímo na WAT prostřednictvím svých receptorů v SCN, které je součástí sympatických eferentních drah vedoucích do této tkáně (Bartness et al., 2001). Sympatická větev autonomního nervového systému je zapojena v regulaci metabolismu lipidů a jejich mobilizaci (Walton et al., 2011). Na křečičku džungarském bylo zjištěno, že krátká fotoperioda zvyšuje uvolňování noradrenalinu z nervových zakončení stimulací MT₁ na sympatických eferentních neuronech, který následně stimuluje lipolýzu ve WAT (Demas & Bartness, 2001). Pro druhy, které na podzim přibírají, byla navržena hypotéza, podle níž by melatonin mohl sympatickou aktivitu ve WAT naopak inhibovat, což by umožnilo hromadění tuku díky snížené lipolýze (Bartness et al., 2002).

Jedním z důvodů zvýšené syntézy a hromadění triglyceridů v bílé tukové tkáni (WAT) během hyperfagického období jsou změny v tkáňové senzitivě vůči anorexigenně působícím hormonům. Adipocyty této tkáně produkují hormon leptin, jehož hladina pozitivně koreluje s množstvím WAT, a tak slouží jako negativní zpětnovazební signál poskytující informaci o stavu energetických zásob, který za normálních podmínek vede k stimulaci POMC/CART neuronů a tím inhibici příjmu potravy. Ačkoli se jeho plazmatická koncentrace u hibernantů během hyperfagie zvyšuje shodně s rostoucím

množstvím WAT, k navození sytostního účinku nedochází (Florant et al., 2004; Kronfeld-Schor et al., 2000). Obdobně je to i v případě inzulínu (Buck et al., 2002). Sezónní rezistence vůči těmto hormonům zřejmě umožňují živočichům obejít jejich sytostní účinky a vytvořit dostatečné množství tukových zásob (Klug & Brigham, 2015). V prehibernačním období se také zvyšuje exprese lipogenních enzymů, např. diacylglycerol acetyltransferázy (Wang et al., 1997), které umožňují hromadění triglyceridů v tukové tkáni.

Důležitou roli v metabolismu lipidů hrají jaderné receptory aktivované proliferátory peroxizomů (PPAR), které po vazbě ligandu (mastné kyseliny) dimerizují s RXR (Desvergne & Wahli, 1999). Tyto heterodimery působí jako transkripční faktory a ovlivňují tak expresi cílových genů, mezi něž patří například geny kódující acyl-CoA oxidázu nebo protein vázající mastné kyseliny (FABP) (Eddy & Storey, 2003, El Kebhaj et al., 2009). PPAR vykazují rytmickou expresi, která je regulována hodinovými geny a zároveň mohou samy ovlivňovat transkripci některých hodinových genů, čímž vytváří spojení mezi cirkadiánními rytmy a metabolismem (Canaple et al., 2006; Oishi et al., 2005). Pro vytvoření tukových zásob je důležitá zejména izoforma PPAR γ , která reguluje diferenciaci preadipocytů ve zralé adipocyty a transkripci genů zapojených v lipogenezi a ukládání triglyceridů (He et al., 2003). Zvýšená exprese PPAR γ by se proto dala během hyperfagického období očekávat, nicméně změny v jeho aktivitě spojené s hibernací se liší mezi jednotlivými druhy. Například u tarbika velkého (*Jaculus orientalis*) je exprese PPAR γ v bílé tukové tkáni zvýšena v prehibernačním období, ale nikoliv během hibernace (Kabine et al., 2004), zatímco u sysla páskovaného (*Ictidomys tridecemlineatus*) či netopýřů hnědavých (*Myotis lucifugus*) se během hibernace zvyšuje (Eddy et al., 2005; Eddy & Storey, 2003). Hibernanti tedy vykazují vyšší aktivitu PPAR γ buď před, nebo během hibernace.

Aby mohli živočichové využívat tukové zásoby i při velmi nízkých tělesných teplotách, konzumují během hyperfagie potravu bohatou na polynenasycené mastné kyseliny (PUFA) (Frank et al., 1998). Fluidita lipidů je totiž do značné míry ovlivněna stupněm nenasycenosti mastných kyselin a PUFA tak zajišťují, že tukové rezervy zůstávají dostatečně fluidní, aby mohlo docházet k jejich mobilizaci během hibernace (Frank et al., 2008). S tím souvisí i remodelace buněčných membrán před nástupem do hibernace (Arnold et al., 2011). PUFA jsou důležitou složkou pro jejich fungování a ovlivněním jejich fluidity mají vliv i na celou řadu membránových procesů. Během prehibernačního a hibernačního období dochází v rámci této remodelace k posunům poměrů n-3 ku n-6 polynenasycených mastných kyselin. Nejvyšší poměr fosfolipidů s n-6 mastnými kyselinami, u nichž se předpokládá úloha ve stabilizování srdečních funkcí při nízkých teplotách, ku fosfolipidům s n-3 mastnými kyselinami byl pozorován na začátku a konci hibernace. Po návratu do normotermie a ukončení hibernace se jejich množství v membránových fosfolipidech rychle snižuje (Arnold et al., 2011).

V rámci prehibernačních změn musí dojít i k přizpůsobení hnědé tukové tkáně (BAT), hlavního orgánu generujícího teplo. Ačkoli je morfologie a funkce této tkáně regulována hlavně okolní teplotou, působení krátké fotoperiody v buňkách BAT také indukuje výrazné strukturální a biochemické modifikace nezávisle na chladu (Heldmaier et al., 1989; Zhao & Wang, 2005). Tyto reakce na krátkou fotoperiodu jsou pravděpodobně zprostředkovány melatoninem, což dokazují například pokusy s křečky zlatými a křečky džungarskými, u nichž odpolední aplikace melatoninu vyvolaly zvýšení sympatické aktivity a množství mitochondriálních proteinů v BAT a posílení její termogenní funkce (Bartness & Wade, 1984; Heldmaier et al., 1981). Přesný mechanismus, kterým melatonin navozuje hypertrofii BAT a zvyšuje její termogenní kapacitu, není zcela znám, nicméně bylo navrženo několik možností. Například by mohl prostřednictvím svých centrálních receptorů stimulovat činnost sympatických vláken inervujících BAT a zvyšovat zde obrat noradrenalinu nebo působit přímo na adipocyty této tkáně vazbou na MT_1 a MT_2 receptory na jejich membránách. Obě tyto možnosti by vedly k zvýšení exprese klíčových faktorů pro diferenciaci adipocytů a biogenezi mitochondrií (shrnutí v Tan et al., 2011).

Vstupu do hibernace často předchází výrazné snížení příjmu potravy a s tím spojené zpomalení metabolismu (Florant & Healy, 2012). Tento přechod mezi hyperfagií a hypofagií by mohl souviset se zvýšenou expresí VGF polypeptidu (Schwartz et al., 2015). VGF a jeho deriváty jsou zapojeny v regulaci příjmu potravy, hmotnosti a energetické homeostázy, což bylo ukázáno na *Vgf* knock-outovaných myších, které byly hubené, hypermetabolické a měly vyšší energetický příjem (Hahm et al., 1999). Jeho zvýšená exprese byla pozorována v hypothalamu i mozkové kůře u syslů páskovaných během října, kdy dochází k snížení příjmu potravy, zvětšení tukových zásob a nástupu lehkých boutů torporu, ale nikoliv v hibernaci, což značí jeho úlohu v této přechodné fázi (Schwartz et al., 2013). Na sezónních druhích křečků se zjistilo, že je jeho exprese indukována v dorsomediálním posteriorním ARC (dmpARC) při přechodu z dlouhé do krátké fotoperiody, a že se v této oblasti v závislosti na fotoperiodě mění exprese i některých dalších genů, které kódují např. RXR nebo CRBP2 (z angl. cellular retinoic acid-binding protein 2) souvisejících se signalizací kyselinou retinovou (Ross et al., 2005). Proto se o dmpARC uvažuje jako o důležitou strukturu zapojenou v převodu fotoperiodické informace do sezónních metabolických změn (Barrett et al., 2005).

4.3 HIBERNACE

Hibernační období je tvořeno sérií boutů torporu trvajících v závislosti na druhu a okolní teplotě několik dnů až týdnů, které jsou přerušovány krátkými normotermními periodami, tzv. interbouty (Carey et al., 2003). Hibernační bouty jsou nejdelší uprostřed hibernační sezóny, na jejím začátku a konci bývají krátké (Heldmaier et al., 2004).

4.3.1 Navození hibernace a hibernační stav

Při vstupu do hibernace, který je regulován parasympatickým nervovým systémem (Lyman, 1984), dochází k snížení dechové frekvence s postupným přechodem k přerušovanému dýchání, zpomalení srdečního rytmu i všech ostatních životních funkcí a výraznému zpomalení celkového metabolismu (Geiser, 2013). Potlačení aktivity sympatického nervového systému (SNS) je proto pro navození hibernace nezbytné, zejména kvůli utlumení endogenní produkce tepla (Dark, 2005). Hypothalamický „set point“ pro zahájení termoregulačních reakcí je přenastaven na nižší úroveň, což umožňuje snížit tělesnou teplotu na hodnoty jen o pár stupňů vyšší než je teplota okolí (Storey & Storey, 2010). Pokud klesá teplota tělesného jádra moc rychle, hibernanti jsou schopni tvorbou tepla tento pokles zpomalit či zastavit (Heldmaier et al., 2004). Jedná se tedy o aktivně regulovaný proces a termoregulační mechanismy fungují po celou dobu hibernace, jen se sníženou senzitivitou a nižší prahovou hodnotou, pod níž dochází k jejich aktivaci (Heller et al., 1977; Snapp & Heller, 1981).

Histochemickou analýzou exprese genu *c-Fos*, který je využíván jako marker neuronální aktivity, bylo zjištěno, že při vstupu i probouzení vykazují nejvyšší aktivitu neurony v preoptické oblasti (POA) v předním hypothalamu (Bratincsák et al., 2007), kde dochází k integraci signálů z periferních a centrálních termoreceptorů a aktivaci efektorových termoregulačních drah. Při vstupu je to konkrétně ventrolaterální část mediální POA, která tedy pravděpodobně řídí pokles teploty, nicméně přesné mechanismy regulující změny tělesné teploty během hibernace zůstávají do značné míry neznámé. Do řízení termoregulace je zapojeno mnoho neurotransmiterů a neuromodulátorů. Jedním z hlavních je například serotonin (5-hydroxytryptamin, 5-HT) (Abbas et al., 2011). Jeho množství a aktivita klíčového enzymu v jeho biosyntéze, tryptofan hydroxylázy, se zvyšuje již před vstupem do hibernace (Popova et al., 1993), zároveň klesá aktivita monoamin oxidázy A a tudíž i katabolismus 5-HT (Semenova et al., 2004). Ukázalo se, že 5-HT může excitovat teplo-senzitivní a inhibovat chlad-senzitivní neurony v hypothalamu (Jell, 1974; Watanabe et al., 1986) a že v hipokampu se před hibernací zvyšuje mRNA exprese 5-HT_{1A} receptoru podílejícího se na vyvolání hypotermie (Naumenko et al., 2008). Serotoninergní signalizace se tedy velmi pravděpodobně podílí na regulaci vstupu do hibernace.

K snížení tělesné teploty by mohly přispívat změny vlastností termosenzitivních neuronů v hypothalamu, které byly pozorovány například u syslů. U nich se s přechodem do hibernace v POA zvyšuje množství teplo-senzitivních neuronů i jejich termosenzitivita (Sun et al., 1998). Na chladové podněty tudíž nereagují produkcí tepla tak, jak by tomu bylo mimo hibernační sezónu.

Několik studií naznačilo zapojení adenosinové signalizace prostřednictvím centrálních adenosinových A₁ receptorů (A₁R) v regulaci tělesné teploty (Jinka et al., 2011; Tamura et al., 2005). A₁R fungují převážně jako inhibiční receptory a jejich aktivace se zdá být pro navození hypotermie a zpomalení metabolismu při vstupu do hibernace nezbytná, neboť blokování aktivity těchto receptorů intracerebroventrikulární (ICV) aplikací jejich antagonistů brání spontánnímu vstupu do torporu (Ilf)

& Swoap, 2012; Jinka et al., 2011). Ačkoli přesná oblast, v níž se adenosin- A_1R signalizace podílí na spuštění hibernace, je zatím neznámá, v nedávné studii se ukázalo, že pro inhibici termogeneze zprostředkovanou A_1R by mohly být klíčové inhibiční neurony v intermediálním nucleus tractus solitarii (iNTS), jejichž stimulace vede přes inhibici neuronů v rostrálním raphe pallidus (rRPa) k potlačení termogeneze (Tupone et al., 2013). K indukci hibernace aktivací A_1R nedochází mimo hibernační období, což svědčí o sezónním zvýšení senzitivity k této signalizaci (Jinka et al., 2011).

Hledáním molekul zodpovědných za spuštění hibernace se zabývají vědci řadu let a několik účinných látek, které vyvolávají stav podobný torporu, již bylo objeveno. Mezi ně patří např. derivát thyroïdního hormonu 3-iodothyronamin (Braulke et al., 2008; Scanlan et al., 2004), nicméně určité rozdíly mezi přirozeným a uměle vyvolaným torporem stále existují (Strijkstra et al., 2012; Ratigan & McKay, 2015). V 60. letech byl z krve syslů páskovaných izolován hibernační faktor HIT (z angl. hibernation induction trigger), který sdílí některé podobnosti se syntetickým delta opioidním peptidem DADLE ([D-Ala², D-Leu⁵]-enkephalin) a působením přes opioidní receptory je schopný navodit hibernaci i u normotermních jedinců (Oeltgen et al., 1988; Rosser & Bruce, 1978). Ačkoli u většiny ostatních druhů tyto účinky nevyvolává (Abbotts et al., 1979; Minor et al., 1978), změny v opioidním systému v mozku během hibernace svědčí o zapojení tohoto systému do její regulace (Cui et al., 1996). Studie s křečky a sysly ukázaly, že tento systém reguluje tělesnou teplotu v hluboké hibernaci (Tamura et al., 2005, 2012; Yu & Cai, 1993). U křečků zlatých dochází po vstupu do torporu v ARC neuronech k produkci β -endorfinu. Ten pak aktivací opioidních receptorů v hypothalamu reguluje tělesnou teplotu a udržuje hypotermní stav. ICV aplikace protilátky proti β -endorfinu (Tamura et al., 2012) či antagonisty opioidních receptorů během hluboké hibernace vede naopak k zvýšení teploty a přerušení hibernace (Tamura et al., 2005). Dle těchto studií se tedy zdá, že regulace tělesné teploty během hibernace je fázově specifická. Při vstupu je zapojen A_1R systém, zatímco další fáze je regulována opioidním systémem.

Aby se během hibernace minimalizoval energetický výdej, jsou inhibovány nebo silně potlačeny neesenční buněčné a energeticky nákladné procesy včetně genové transkripce a translace (Morin & Storey, 2006; Staples, 2014; Wu & Storey, 2012). Jedním z hlavních mechanismů potlačujících metabolismus je reverzibilní fosforylace proteinů, která ovlivňuje řadu metabolických funkcí (Storey & Storey, 2007). V torporu je tímto procesem redukována zejména aktivita enzymů zapojených v katabolismu sacharidů (př. pyruvátdehydrogenázy, hexokinázy) (Storey & Storey, 2004; Storey, 1997), což výrazně usnadňuje navození hypometabolického stavu. Dalším důležitým mechanismem je pravděpodobně SUMOylace. U hibernujících syslů páskovaných bylo pozorováno zvýšené množství SUMOylovaných proteinů (Lee et al., 2007), což vede mimo jiné k inhibici transkripčních faktorů a patrně je tak tento proces důležitý pro potlačení genové exprese během hibernace (Morin & Storey, 2009). Výjimkou je exprese některých genů a proteinů nezbytných pro

regulaci přechodů mezi normotermií a torporem a udržení buněčné integrity v hypometabolickém stavu, která je v tomto období naopak zvýšena (Rouble & Storey, 2015; Schwartz et al., 2013).

V rámci reorganizace metabolismu dochází k přechodu z katabolismu sacharidů na katabolismus lipidů a uložené tuky se tak stávají primárním zdrojem energie (Andrews, 2004). Lipolýza v bílé tukové tkáni je usnadněna zvýšenou expresí pankreatické a hormon-senzitivní lipázy (Wilson et al., 1992; Bauer et al., 2001). Uvolněné mastné kyseliny aktivují PPAR α , který je pro přepnutí metabolismu na katabolismus tuků klíčový, neboť stimuluje expresi mRNA pyruvátdehydrogenázy kinázy 4 (PDK4) (Holness et al., 2003; Stavinoha et al., 2004). Zvýšené množství tohoto enzymu inhibuje pyruvátdehydrogenázu, čímž brání konverzi pyruvátu na acetyl-CoA a jeho vstupu do citrátového cyklu (Andrews, 2007). PDK4, jejíž exprese je během hibernace zvýšena zejména v srdci, WAT a kosterních svalech (Buck et al., 2002), tak pomáhá zachovat sacharidy a zajistit, že jsou lipidy primárním zdrojem pro syntézu adenosintrifosfátu (ATP). Během torporu se mění preference využitých metabolických substrátů i v mozku, který přednostně využívá ketolátky (př. β -hydroxybutyrát). Tomu napomáhá i zvýšená exprese jejich přenašeče monokarboxylového transportéru 1 (MCT1) v hematoencefalické bariéře (Andrews et al., 2009).

PPAR regulují i další geny, které usnadňují přechod na lipidový metabolismus a jsou více exprimovány během hibernace. Například u sýslů páskovaných, Parryových a tarbika velkého byla během hibernace pozorována zvýšená exprese hydroxymethylglutaryl-CoA syntázy (HMGCS2), enzymu důležitého pro syntézu ketolátek (Epperson et al., 2010), FABP zodpovědného za transport mastných kyselin do různých buněčných kompartmentů (Wu et al., 2013), karnitin-palmitoyltransferázy 1 (CPT1), která zajišťuje transport těchto kyselin do mitochondrií či acyl-CoA oxidázy, důležité pro oxidaci mastných kyselin (El Kebbij et al., 2009). PPAR α také indukuje růstový faktor fibroblastů 21 (FGF21) (Lundåsen et al., 2007), jehož zvýšená exprese vede u hladovějících myši k navození denního torporu a stimulaci lipolýzy (Inagaki et al., 2007). U sýslů páskovaných tyto účinky FGF21 ve spuštění hibernace nicméně pozorovány nebyly, což svědčí o zapojení odlišných signálních drah v indukci hibernace a denního torporu (Nelson, 2013).

Fungování PPAR závisí na dostupnosti PPAR γ koaktivátorů-1 (PGC-1), které se významně podílejí na regulaci energetického metabolismu a fungování mitochondrií (Liang & Ward, 2006). PGC-1 α , jehož exprese je indukována chladem a hladověním (Maury et al., 2011) a zvýšena v některých tkáních během hibernace (Eddy et al., 2005; Eddy & Storey, 2003), má důležitou úlohu v regulaci metabolismu MK, adaptivní termogeneze a biogeneze mitochondrií (Guan et al., 2005; Wu et al., 1999). Kromě koaktivace PPAR zvyšuje transkripci cílových genů koaktivací i dalších jaderných receptorů, např. farnesoidního receptoru X (FXR), jaterního receptoru X (LXR) nebo ROR α . FXR jsou významnými regulátory metabolismu žlučových kyselin, podílejí se na metabolismu lipidů a sacharidů (Kim et al., 2007; Zhang et al., 2006), LXR jsou zapojeny v regulaci homeostázy cholesterolu a lipidů (Peet et al., 1998; Kalaany et al., 2005) a ROR α ovlivňují řadu fyziologických

procesů včetně lipidového metabolismu (Kang et al., 2007). Expresie ligandů i cílových genů všech těchto receptorů se mění v průběhu hibernačního období a je tak pravděpodobné, že se jaderné receptory podílejí na regulaci hibernační fyziologie (shrnutí v Nelson et al., 2009).

V regulaci hlavních metabolických změn během hibernačního cyklu se předpokládá i zapojení sirtuinů (SIR), NAD⁺-dependentních deacetyláz, jejichž hladiny se v průběhu hibernace mění v různých tkáních (Rouble & Storey, 2015). Tyto enzymy jsou zapojeny v mnoha metabolických a ochranných procesech. Např. SIRT3 v mitochondriích zmírňuje oxidační stres (Jing et al., 2011; Qiu et al., 2010), SIRT1 reguluje hlavní transkripční faktory zapojené v metabolismu glukózy a lipidů, jako PPAR či PGC-1 α , a usnadňuje mobilizaci tuků během hladovění (Gerhart-Hines et al., 2007; Picard et al., 2004; Rodgers et al., 2005).

V udržení hibernačního stavu má pravděpodobně důležitou úlohu histaminergní signalizace. Množství histaminu se během hibernace zvyšuje a dochází i k lokálním změnám exprese histaminových receptorů (Sallmen et al., 2003). Histamin funguje v CNS jako neurotransmitter a zvýšená exprese jeho receptorů H₁ a H₂, které zprostředkovávají excitační efekt histaminu (Selbach et al., 1997; Yanovsky & Haas, 1998), byla pozorována v hipokampu. Aplikace histaminu do této oblasti navíc prodlužuje délku hibernačního boutu (Sallmen et al., 2003). Histamin excituje pyramidové neurony hipokampu, které generují akční potenciály i při nízké teplotě mozku. Tyto buňky následně inhibují ascendentní aktivační systém retikulární formace zodpovědný za probouzení ze spánku a udržování bdělého stavu, čímž prodlužují délku hibernace (Arant et al., 2011; Sallmen et al., 2003). V mozkové kůře a bazálních gangliích se naopak zvyšuje exprese inhibičního receptoru H₃, jehož prostřednictvím histamin snižuje např. uvolňování dopaminu. Regulací dalších neurotransmiterních systémů pomocí těchto receptorů by se tak histamin mohl podílet na řízení činnosti CNS během hibernace (Sallmen et al., 2003).

Aby se hibernanti vyhnuli letálnímu poškození či různým onemocněním v průběhu hibernace, vyvinuli si řadu ochranných mechanismů. Kromě genů zapojených v metabolismu vykazují zvýšenou expresi i geny, jejichž produkty zajišťují zachování základních funkcí při nízkých teplotách, např. α -2 makroglobulin (Epperson & Martin, 2002), který brání srážení krve a usnadňuje její průtok při nízké teplotě, čemuž napomáhá i snížené množství srážecích faktorů a cirkulujících trombocytů (McCarron et al., 2001). U některých druhů se zvyšuje exprese sarkoplazmatické/endoplazmatické Ca²⁺ ATPázy 2a (SERCA 2a) (Brauch et al., 2005; Yatani et al., 2004), hlavní Ca²⁺ pumpy v srdečním svalu, jejíž zvýšená aktivita udržuje rovnováhu Ca²⁺ a tím funkci srdce i při nízké tělesné teplotě (Giroud et al., 2013). U hibernujících křečků zlatých a sýslů dlouhoocasých (*Citellus undulatus*) byla zjištěna zvýšená exprese některých konexinů (Fedorov et al., 2005; Saitongdee et al., 2000), které jsou stavebními prvky buněčných spojení „gap junctions“ vyskytujících se v srdci, což zřejmě usnadňuje synchronní kontrakce.

Během hibernace a zejména při probouzení dochází k zvýšení antioxidační obrany, která zajišťuje ochranu makromolekul a tkání před oxidativním poškozením vyvolaným působením volných radikálů, jejichž množství se při zahřívání výrazně zvyšuje v důsledku vysoké spotřeby kyslíku (Vucetic et al., 2013). U sysla Parryova a sysla páskovaného byla pozorována 3-4x vyšší plazmatická koncentrace askorbátu, který vycytává volné radikály (Drew et al., 1999; Tøien et al., 2001). Při probouzení se zvyšuje aktivita obranných enzymů jako katalázy, glutathion peroxidázy či superoxidodismutázy (Ohta et al., 2006; Okamoto et al., 2006). S probouzením se zvyšuje i syntéza melatoninu a to bez ohledu na denní dobu, v jaké k němu dochází (Vaněček et al., 1984). Melatonin má řadu protektivních funkcí a volně prochází přes buněčné membrány a hematoencefalickou bariéru (Reiter et al., 2010), takže se předpokládá, že má ochrannou úlohu během tohoto náročného přechodu. Kromě přímého vycytávání volných radikálů také reguluje aktivitu antioxidantních enzymů (Antolín et al., 1996), zvyšuje aktivitu komplexu I a IV v mitochondriích (Martín et al., 2002), které produkují nejvíce volných radikálů, před jejichž působením chrání DNA i buněčné membrány a potlačuje apoptotickou signalizaci (Schwartz et al., 2015).

4.3.2 Periodická probouzení

Hibernační bouty jsou skoro u všech hibernujících druhů přerušovány krátkými návraty do normotermie, během nichž dochází k obnovení veškerých procesů na téměř běžnou úroveň (Carey et al., 2003). Většina hibernantů vykazuje poměrně pravidelné rytmy probouzení a torporu, což značí zapojení nějakého endogenního časovacího mechanismu. Tato skutečnost a podobnost mezi cirkadiánním cyklem tělesné teploty, která je vysoká v bdělém stavu a nízká během spánku, a tělesnou teplotou v průběhu hibernačního cyklu, která je nízká v torporu a během interboutu se vrací téměř na normotermní úroveň, vedla Malana (2010) k hypotéze, že cyklus torpor-probouzení je výsledkem působení specifických cirkadiánních „TA hodin“ (z angl. torpor-arousal), které na rozdíl od hlavních hodin v SCN ztratily svou teplotní kompenzaci a přetrvávají i během hibernace (Malan, 2010, 2012).

Probouzení z torporu je v porovnání s jeho navozením relativně rychlé (Hampton et al., 2010). Výrazně se zvyšuje činnost SNS (Wang & Lee, 1996), který stimuluje činnost srdce k prokrvení tkání a mobilizaci energetických substrátů, jimiž jsou v počáteční fázi zahřívání zejména sacharidy, později i v kombinaci s mastnými kyselinami (Dark, 2005). Zahřívání je zajištěno endogenní produkcí tepla, jehož hlavním zdrojem je hnědá tuková tkáň (BAT) umožňující netřesovou (adaptivní) termogenezi. BAT je charakteristická velkým množstvím mitochondrií se specifickým rozprahujícím proteinem UCP1 v jejich vnitřní membráně, který umožňuje odpojení oxidativní fosforylace od syntézy ATP. Tento proces je regulován SNS a jeho neurotransmiterem noradrenalinem, který spouští přes β 3-adrenergní receptory v membránách hnědých adipocytů signální dráhu s cAMP a proteinkinázou A vedoucí k fosforylaci a aktivaci lipáz a následné lipolýze. Volné mastné kyseliny aktivují UCP1, ten umožní tok protonů přes vnitřní membránu, čímž se snižuje elektrochemický protonový gradient

pohánějící syntézu ATP a veškerá energie se uvolňuje ve formě tepla, které je krví rozváděno po těle (Cannon & Nedergaard, 2004).

Adrenergní signalizace zvyšuje v BAT při nízké teplotě expresi DIO2 (Raasmaja & Larsen, 1989), což vede k lokálnímu zvýšení koncentrace T3, jehož působení zvyšuje expresi *Ucp1* (Martinez De Mena et al., 2010). Blokování hypothalamického tyreoliberinu působením protilátky navíc zabraňuje zvýšení tělesné teploty při probouzení (Tamura et al., 2005), takže thyroidní hormony se pravděpodobně také podílejí na zahřívání během probouzení z torporu.

K posílení BAT termogeneze by mohly přispívat i orexiny (též hypocretiny), hypothalamické neuropeptidy zapojené v různých fyziologických funkcích jako např. termogenezi, příjmu potravy, spánkovém cyklu či energetickém výdeji (shrnuto v Sellayah & Sikder, 2013). Orexinergní neurony projikují do mnoha oblastí mozku včetně těch zapojených v termoregulaci (POA, DMH, RPa) (Peyron et al., 1998; Tupone et al., 2011) a aktivace orexinových receptorů v rostrálním RPa zesiluje BAT termogenezi (Tupone et al., 2011). Jejich účast na zahřívání z hibernace nicméně nebyla ještě zcela prozkoumána (Sellayah & Sikder, 2013).

Jakmile se tělesná teplota zvýší přibližně na 15°C, spouští se i třesová termogeneze zprostředkovaná kontrakcemi kosterních svalů (Dark, 2005).

Zvýšení tělesné teploty je pravděpodobně řízeno z ventromediální části mediální preoptické oblasti, která při probouzení vykazuje silnou *c-Fos* expresi (Bratincsák et al., 2007). V hypothalamu sysla Parryova byla během probouzení pozorována zvýšená exprese genu *Abat* zodpovědného za katabolismus γ -aminomáselné kyseliny (GABA). Jeho zvýšená exprese by tak mohla vést k snížení hladiny GABA v hypothalamu a tím disinhibici neuronů v DMH inervujících neurony v rRPa, které regulují BAT termogenezi (Yan et al., 2008).

Periodická probouzení jsou energeticky velmi nákladná. Odhaduje se, že asi 70-80% energie spotřebované za celou hibernační sezónu je vyčerpáno během těchto period (Armitage et al., 2003; Karpovich et al., 2009). Existuje spousta teorií, proč k nim dochází, ale žádnou z nich se zatím nepodařilo jednoznačně prokázat. Dle těch nejběžnějších jsou periodická probouzení vyvolána např. potřebou obnovit metabolickou homeostázu (Epperson et al., 2011) či imunitní systém pro boj s patogeny, které vstoupily do organismu během torporu (Prendergast et al., 2002), resyntetizovat důležité proteiny nebo se zotavit ze spánkové deprivace způsobené během hypotermie (Daan et al., 1991; van Breukelen & Martin, 2015).

4.3.3 Fungování SCN a cirkadiálních hodin během hibernace

Cirkadiální systém zajišťuje koordinaci vnitřních biologických procesů a jejich synchronizaci s vnějším prostředím. Zatímco denní torpor je cirkadiálními hodinami řízen (Herwig et al., 2007), v případě hibernace zůstává otázka fungování těchto hodin stále nejasná, přestože se jí už zabývalo mnoho studií. Na jedné straně jsou studie poukazující na pozastavenou činnost hodin, dle kterých

během hibernace dochází v SCN k vymizení rytmických oscilací v expresi některých hodinových genů, konkrétně *Per1*, *Per2*, *Bmal1*, stejně jako u hodinami kontrolovaného genu *Avp* či ztrátě rytmické exprese *Aanat* (Revel et al., 2007). Na straně druhé jsou studie naznačující fungování hodin i v podmínkách hibernace, které vycházejí například z pozorování přetrvávajících cirkadiálních rytmů tělesné teploty, i když s velmi nízkou amplitudou, u některých druhů křečků a zemních veverka (Grahn et al., 1994; Ruby et al., 2002). Tyto rytmy ale nebyly pozorovány u sysla Parryova (*Spermophilus parryii*) a sysla obecného (*Spermophilus citellus*) (Hut et al., 2002; Williams et al., 2012) a otázka funkčnosti cirkadiálního pacemakeru během hibernace tak zůstává stále kontroverzní. Ablace SCN nicméně narušuje časový průběh hibernačního cyklu (Ruby et al., 1996) a pokusy s radioaktivně značenou 2-deoxyglukózou ukázaly, že SCN zůstává během hibernace aktivnější než většina ostatních oblastí mozku (Kilduff et al., 1982). Exprese *c-Fos* mRNA se zvyšuje během torporu s vrcholem při probouzení (Bratincsák et al., 2007) a v tuto dobu bylo pozorováno i signifikantní zvýšení exprese genů *Per1*, *Cry1*, *Cry2* a *Bmal1* v několika tkáních (Yan et al., 2008). Tyto výsledky svědčí o zapojení SCN v regulaci hibernace, nicméně jejich přesná úloha v tomto procesu zůstává zatím neznámá.

Některé druhy (např. sysel obecný, sysel Parryův a sysel zlatavý) vykazují po ukončení hibernace krátké období arytmycity v aktivitě i tělesné teplotě, ale během několika dnů dochází k resynchronizaci hodin a postupnému obnovení cirkadiálních rytmů (Hut et al., 2002; Williams et al., 2012). Tato pozorování by podporovala teorii o pozastavené činnosti cirkadiálních hodin během hibernace, nicméně jiné příbuzné druhy jsou rytmické ihned po jejím ukončení (Ruby et al., 2002).

4.3.4 Ukončení hibernace

Environmentální signály pro ukončení hibernace mohou využívat pravděpodobně jen živočichové zimující v nadzemních hibernakulech. Spousta druhů ale hibernuje pod zemí a jejich úkryty jsou obvykle dobře izolovány, takže do nich neproniká světlo a teplota uvnitř zůstává relativně stabilní (Körtner & Geiser, 2000; Williams et al., 2012). Načasování konce hibernace je u nich tedy zřejmě řízeno endogenními mechanismy.

Živočichové ukončují hibernační sezónu s plně obnovenými gonádami a na počátku jarního období jsou tak schopni ihned zahájit rozmnožování. Samci končí hibernaci obvykle o několik dní dříve než samice, neboť dokončení testikulárního vývoje a spermatogeneze vyžaduje určitou dobu působení normotermních teplot (Dark, 2005). Toto spontánní obnovení reprodukční funkce je řízeno endogenním rytmem a dochází k němu i v podmínkách stálé tmy (Loudon et al., 1998). Rozlišují se dva typy endogenních sezónních rytmů, které jsou založeny buď na „intervalovém časovači“, nebo na cirkadiálních hodinách (Paul et al., 2008).

První typ rytmů je typický pro krátkověké druhy (např. křeček zlatý). Působení zkracující se fotoperiody vede ke gonadální involuci a navození hibernace, ale koncem zimy je vlivem endogenního

časovače zahájeno spontánní obnovou gonád. To hibernujícím živočichům zajišťuje, že se mohou začít rozmnožovat ihned po ukončení hibernace, jakmile nastanou vhodné podmínky. Tento typ rytmů musí být ale resetován dlouhodobějším působením dlouhé fotoperiody, aby mohl být na podzim zahájen nový hibernační cyklus (Prendergast, 2005).

Druhy, u nichž je načasování řízeno cirkadiálními hodinami, nemusí být vystaveny dlouhým dnům, aby mohly na podzim znovu hibernovat (Saboureau, et al., 1999). Aby se ale nedostali mimo fázi, musí být jejich hodiny synchronizovány s vnějším prostředím, k čemuž jim stačí pouze část informace z ročního fotoperiodického cyklu (Monecke, 2004).

5 FOTOPERIODISMUS A DALŠÍ ORGANISMY

Fotoperiodismus, tedy schopnost měřit délku dne a na její změnu reagovat přizpůsobením fyziologických a behaviorálních procesů, je rozšířen napříč rostlinnou i živočišnou říší. Pro mnohé organismy není fotoperioda jen součástí cirkadiálních cyklů, ale je zapojena i v načasování sezónních aktivit. U rostlin reguluje například kvetení, tvorbu zásobních orgánů či dormanci pupenů (Weller & Kendrick, 2008). U hmyzu řídí nástup diapauzy, může regulovat pohlavní vývoj, reprodukci, migraci, výměnu srsti či peří u ptáků i savců, pro načasování migrace a reprodukce ji využívají i některé ryby nebo může modulovat procesy závislé na teplotě u obojživelníků a plazů (shrnuto v Bradshaw & Holzapfel, 2007).

Tyto organismy musí být schopny vnímat nejen délku dne, ale i směr její změny. Všechny fotoperiody se totiž objevují dvakrát ročně a některé podobně dlouhé předcházejí zcela odlišným podmínkám. Proto musí být schopny uchovávat informaci o předchozí fotoperiodě, aby ji mohly porovnat s tou aktuální (tzv. fotoperiodická historie), což zajistí zahájení sezónně vhodné reakce (Prendergast, 2005; Walton et al., 2011). Schopnost reagovat na změnu délky dne je zřejmá zejména při jarní a podzimní rovnodennosti, kdy navzdory stejně dlouhé fotoperiodě vykazují sezónní živočichové rozdílné fyziologické reakce.

Pro fotoperiodismus bylo navrženo několik modelů, které se snaží vysvětlit, jak organismy měří délku dne. Mezi základní patří modely vnější či vnitřní koincidence, dle kterých je měření délky dne funkcí cirkadiálního systému, a model přesýpacích hodin založený na procesu akumulace určitých regulačních produktů, které přibývají v závislosti na délce dne a příslušná reakce je spuštěna po dosažení prahové koncentrace. V tomto modelu není cirkadiální systém ve fotoperiodismu zapojen. Dle modelu vnější koincidence dochází k interakci mezi cirkadiálními hodinami a světlem, zatímco model vnitřní koincidence předpokládá interakci dvou cirkadiálních oscilátorů, z nichž jeden je synchronizován s úsvitem a druhý se soumrakem (shrnuto v Hut, 2011).

Mechanismy vnímání a zpracování fotoperiody se liší mezi různými skupinami živočichů. Zatímco u savců je jedinou vstupní drahou světla sítnice, ostatní skupiny obratlovců mají v CNS několik fotosenzitivních míst, jejichž prostřednictvím mohou koordinovat fotoperiodické reakce.

Rozdílný je i význam melatoninu v sezónních reakcích. Pro savce je zcela zásadní, zatímco například u ptáků jsou tyto reakce na rytmu melatoninu pravděpodobně nezávislé, ačkoli je může modifikovat (Greives et al., 2012). Fotoperiodické reakce se ale v hypothalamu savců a ptáků shodují v zapojení lokálního metabolismu thyroïdních hormonů regulovaného působením TSH. Prostřednictvím této dráhy jsou řízeny sezónní reprodukční funkce u obou skupin (Barrett et al., 2007; Yoshimura et al., 2003). Ačkoli sezónní savci mají dvě rozdílné reprodukční strategie, kdy jedna skupina s dlouhým gestačním obdobím se množí při krátké fotoperiodě a druhá skupina s krátkou dobou březosti při prodlužující se fotoperiodě na jaře, sdílejí společný mechanismus fotoperiodické indukce T3. Přesný způsob, jakým tento hormon vyvolává opačnou reakci u těchto druhů, zatím nebyl zcela objasněn (Hut et al., 2014; Nakane & Yoshimura, 2014).

6 ZÁVĚR

V sezónním světě musí být živočichové schopni vypořádat se s výkyvy vnějších podmínek, jako je teplota či dostupnost potravních zdrojů. Jednou z nejúčinnějších strategií, jak se vyrovnat s nepříznivými podmínkami prostředí, zejména během zimního období, je hibernace. Během ní jsou živočichové schopni výrazně zpomalit veškeré fyziologické procesy a udržovat je dlouhodobě na minimální úrovni. To jim umožňuje ušetřit značné množství energie, kterou by jinak museli vynaložit na setrvání v normotermii. Vzhledem k náročnosti této adaptace je potřeba se na ni důkladně připravit a všechny procesy, které jí předcházejí, včetně hibernace samotné, správně načasovat. Pro přesné načasování sezónních reakcí využívají hibernanti dvě strategie, obě ale sdílejí společný Zeitgeber, a tím jsou sezónní změny délky dne. Fakultativní hibernanti vyžadují k spuštění hibernace vnější signál, kterým je nejčastěji právě zkracující se fotoperioda, zatímco u obligatorních druhů není tento signál potřeba přímo pro navození hibernace, ale je nezbytný pro synchronizaci jejich cirkaduálních rytmů. Základní mechanismy pro měření délky dne a převod této informace do sezónní fyziologie se zdá být u obou skupin stejný. Během několika posledních let byl učiněn významný pokrok v objasnění neuroendokrinní dráhy, která prostřednictvím TSH signalizace zprostředkovává sezónní změny, zejména co se týče reprodukce. U hibernujících druhů vede zkracující se fotoperioda prostřednictvím této dráhy k potlačení pohlavních funkcí, což je pravděpodobně důležitým předpokladem pro spuštění hibernace. Jak fotoperioda působí změny v dalších systémech, zůstává ale zatím nejasné a jsou proto potřeba další studie.

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Abbas S. A., Khan U. A. & Uddin A. B. M. H. (2011). Seasonal Changes Effects on the Serotonin and Melatonin Transmission, *1*(2), 1–9.
- Abbotts B., Wang L. C. H. & Glass J. D. (1979). Absence of evidence for a hibernation “trigger” in blood dialyzate of Richardson’s ground squirrel. *Cryobiology*, *16*(2), 179–183.
- Andrews M. T. (2004). Genes controlling the metabolic switch in hibernating mammals. *Biochemical Society Transactions*, *32*(Pt 6), 1021–1024.
- Andrews M. T. (2007). Advances in molecular biology of hibernation in mammals. *BioEssays*, *29*(5), 431–440.
- Andrews M. T., Russeth K. P., Drewes L. R. & Henry P.-G. (2009). Adaptive mechanisms regulate preferred utilization of ketones in the heart and brain of a hibernating mammal during arousal from torpor. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, *296*(2), R383–R393.
- Antolín I., Rodríguez- Colunga M.J., Sainz R. M., Mayo J. C., Uría H., Kotler M. L., Tolivia D., Menéndez-Peláez, A. (1996). Neurohormone melatonin prevents cell damage: effect on gene expression for antioxidant enzymes. *The FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *10*(8), 882–890.
- Arant R. J., Goo M. S., Gill P. D., Nguyen Y., Watson K. D., Hamilton J. S., Horowitz J., Horwitz, B. (2011). Decreasing temperature shifts hippocampal function from memory formation to modulation of hibernation bout duration in Syrian hamsters. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, *301*(2), R438–47.
- Armitage K. B., Blumstein D. T. & Woods B. C. (2003). Energetics of hibernating yellow-bellied marmots (*Marmota flaviventris*). *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, *134*(1), 101–114.
- Arnold W., Ruf T., Frey-Roos F. & Bruns U. (2011). Diet-independent remodeling of cellular membranes precedes seasonally changing body temperature in a hibernator. *PLoS ONE*, *6*(4).
- Barrett P., Ebling F. J. P., Schuhler S., Wilson D., Ross A. W., Warner A., Jethwa P., Boelen A., Visser T. J., Ozanne D. M., Archer Z. A., Mercer J. G. & Morgan, P. J. (2007). Hypothalamic thyroid hormone catabolism acts as a gatekeeper for the seasonal control of body weight and reproduction. *Endocrinology*, *148*(8), 3608–3617.
- Barrett P., Ross A. W., Balik A., Littlewood P. A., Mercer J. G., Moar K. M., Sallmen T., Kaslin J., Panula P., Schuhler S., Ebling F. J., Ubeaud C., Morgan, P. J. (2005). Photoperiodic regulation of histamine H3 receptor and VGF messenger ribonucleic acid in the arcuate nucleus of the Siberian hamster. *Endocrinology*, *146*(4), 1930–1939.
- Bartness T. J., Demas G. E. & Song C. K. (2002). Seasonal Changes in Adiposity: the Roles of the Photoperiod, Melatonin and Other Hormones, and Sympathetic Nervous System. *Experimental Biology and Medicine*, *227*(6), 363–376.
- Bartness T. J., Song C. K. & Demas G. E. (2001). SCN Efferents to Peripheral Tissues: Implications for Biological Rhythms, *Journal of Biological Rhythms*, *16*(2), 196–204.
- Bartness T. J. & Wade G. N. (1984). Photoperiodic control of body weight and energy metabolism in Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*): Role of pineal gland, melatonin, gonads, and diet. *Endocrinology*, *114*(2), 492–498.
- Bauer V. W., Squire T. L., Lowe M. E. & Andrews M. T. (2001). Expression of a chimeric retroviral-lipase mRNA confers enhanced lipolysis in a hibernating mammal. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, *281*(4), R1186–R1192.
- Becker-André M., Wiesenberg I., Schaeren-Wiemers N., André E., Missbach M., Saurat J. H. & Carlberg C. (1994). Pineal gland hormone melatonin binds and activates an orphan of the nuclear

- receptor superfamily. *Journal of Biological Chemistry*, 269(46), 28531–28534.
- Bechtold D. A. & Loudon A. S. I. (2007). Hypothalamic thyroid hormones: Mediators of seasonal physiology. *Endocrinology*, 148(8), 3605–3607.
- Bockmann J., Böckers T., Winter C., Wittkowski W., Winterhoff H., Deufel T. & Kreutz M. (1997). Thyrotropin Expression in Hypophyseal Pars Tuberalis-Specific Cells is 3,5,3'-Triiodothyronine, Thyrotropin-Releasing Hormone, and Pit-1 Independent, *Endocrinology*, 138(3).
- Bolborea M. & Dale N. (2013). Hypothalamic tanycytes: Potential roles in the control of feeding and energy balance. *Trends in Neurosciences*, 36(2), 91–100.
- Bradshaw W. E. & Holzapfel C. M. (2007). Evolution of Animal Photoperiodism. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 38(1), 1–25.
- Bratincsák A., McMullen D., Miyake S., Tóth Z. E., Hallenbeck J. M. & Palkovits M. (2007). Spatial and temporal activation of brain regions in hibernation: c-fos expression during the hibernation bout in thirteen-lined ground squirrel. *Journal of Comparative Neurology*, 505(4), 443–458.
- Brauch K. M., Dhruv N. D., Hanse E. & Andrews M. T. (2005). Digital transcriptome analysis indicates adaptive mechanisms in the heart of a hibernating mammal. *Physiological Genomics*, 23(2), 227–34.
- Braulke L. J., Klingenspor M., DeBarber A., Tobias S. C., Grandy D. K., Scanlan T. S. & Heldmaier G. (2008). 3-Iodothyronamine: A novel hormone controlling the balance between glucose and lipid utilisation. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 178(2), 167–177.
- Buck M. J., Squire T. L., Andrews M. T. (2002). Coordinate expression of the PDK4 gene: a means of regulating fuel selection in a hibernating mammal. *Physiological Genomics*, 8(1), 5–13.
- Canaple L., Rambaud J., Dkhissi-Benyahya O., Rayet B., Tan N. S., Michalik L., Delaunay F., Wahli W., Laudet V. (2006). Reciprocal regulation of brain and muscle Arnt-like protein 1 and peroxisome proliferator-activated receptor alpha defines a novel positive feedback loop in the rodent liver circadian clock. *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)*, 20(8), 1715–27.
- Cannon B. & Nedergaard, J. (2004). Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiological Reviews*, 84(1), 277–359.
- Carey H. V., Andrews M. T., Martin S. L. (2003). Mammalian Hibernation: Cellular and Molecular Responses to Depressed Metabolism and Low Temperature. *Physiological Reviews*, 83(4), 1153–1181.
- Coomans C. P., Ramkisoensing A. & Meijer J. H. (2014). The suprachiasmatic nuclei as a seasonal clock. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 37(November), 29–42.
- Cui Y., Lee T. F. & Wang L. C. H. (1996). State-dependent changes of brain endogenous opioids in mammalian hibernation. *Brain Research Bulletin*, 40(2), 129–133.
- Daan S., Barnes B. M. & Strijkstra A. M. (1991). Warming up for sleep? - Ground squirrels sleep during arousals from hibernation. *Neuroscience Letters*, 128(2), 265–268.
- Dardente H., Hazlerigg D. G. & Ebling F. J. P. (2014). Thyroid hormone and seasonal rhythmicity. *Frontiers in Endocrinology*, 5(FEB), 1–11.
- Dardente H., Wyse C. A., Birnie M. J., Dupré S. M., Loudon A. S. I., Lincoln G. A. & Hazlerigg, D. G. (2010). A molecular switch for photoperiod responsiveness in mammals. *Current Biology*, 20(24), 2193–2198.
- Dark J. (2005). Annual lipid cycles in hibernators: Integration of Physiology and Behavior. *Annual Review of Nutrition*, 25(1), 469–497.
- Dave K. R., Christian S. L., Perez-Pinzon M. A. & Drew K. L. (2012). Neuroprotection: Lessons from hibernators. *Comparative Biochemistry and Physiology - B Biochemistry and Molecular Biology*, 162(1-3), 1–9.

- Demas G. E. & Bartness T. J. (2001). Direct innervation of white fat and adrenal medullary catecholamines mediate photoperiodic changes in body fat. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol*, 281(5), R1499–1505.
- Desvergne B. & Wahli W. (1999). Peroxisome proliferator-activated receptors: Nuclear control of metabolism. *Endocrine Reviews*, 20(5), 649–688.
- Drew K. L., Osborne P. G., Frerichs K. U., Hu Y., Koren R. E., Hallenbeck J. M. & Rice M. E. (1999). Ascorbate and glutathione regulation in hibernating ground squirrels. *Brain Research*, 851(1-2), 1–8.
- Dubocovich M. L. & Markowska M. (2005). Functional MT1 and MT2 melatonin receptors in mammals. *Endocrine*, 27(2), 101–110.
- Duncan M. J., Cheng X. & Heller K. S. (1995). Photoperiodic exposure and time of day modulate the expression of arginine vasopressin mRNA and vasoactive intestinal peptide mRNA in the suprachiasmatic nuclei of Siberian hamsters. *Molecular Brain Research*, 32(2), 181–186.
- Dupré S. M., Burt D. W., Talbot R., Downing A., Mouzaki D., Waddington D., Malpoux B., Davis J., Lincoln G. A., Loudon A. S. I. (2008). Identification of melatonin-regulated genes in the ovine pituitary pars tuberalis, a target site for seasonal hormone control. *Endocrinology*, 149(11), 5527–5539.
- Ebling F. J. P. (2015). Hypothalamic control of seasonal changes in food intake and body weight. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 37, 97–107.
- Eddy S. F., Morin P. & Storey K. B. (2005). Cloning and expression of PPAR-gamma and PGC-1alpha from the hibernating ground squirrel, *Spermophilus tridecemlineatus*. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 269(1-2), 175–82.
- Eddy S. F. & Storey K. B. (2003). Differential expression of Akt, PPARgamma, and PGC-1 during hibernation in bats. *Biochemistry and Cell Biology*, 81(4), 269–274.
- El Kebbaj Z., Andreoletti P., Mountassif D., Kabine M., Schohn H., Dauça M., Latruffe N., El Kebbaj M., Cherkaoui-Malki, M. (2009). Differential regulation of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)-alpha1 and truncated PPARalpha2 as an adaptive response to fasting in the control of hepatic peroxisomal fatty acid beta-oxidation in the hibernating mammal. *Endocrinology*, 150(3), 1192–201.
- Epperson, L. E., Karimpour-Fard, A., Hunter, L. E., Martin, S. L., Le, E., Le, H., & Metabolic, M. S. L. (2011). Metabolic cycles in a circannual hibernator. *Physiological Genomics*, 80045, 799–807.
- Epperson L. E. & Martin S. L. (2002). Quantitative assessment of ground squirrel mRNA levels in multiple stages of hibernation. *Physiological Genomics*, 10(2), 93–102.
- Epperson L. E., Rose J. C., Carey H. V & Martin S. L. (2010). Seasonal proteomic changes reveal molecular adaptations to preserve and replenish liver proteins during ground squirrel hibernation. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 298(2), R329–R340.
- Fedorov V. V., Li L., Glukhov A., Shishkina I., Aliev R. R., Mikheeva T., Nikolski V. P., Rosenshtraukh L. V., Efimov, I. R. (2005). Hibernator *Citellus undulatus* maintains safe cardiac conduction and is protected against tachyarrhythmias during extreme hypothermia: Possible role of Cx43 and Cx45 up-regulation. *Heart Rhythm*, 2(9), 966–975.
- Florant G. L. & Healy J. E. (2012). The regulation of food intake in mammalian hibernators: A review. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 182(4), 451–467.
- Florant G. L., Porst H., Peiffer A., Hudachek S. F., Pittman C., Summers S. A., Rajala M. W., Scherer, P. E. (2004). Fat-cell mass, serum leptin and adiponectin changes during weight gain and loss in yellow-bellied marmots (*Marmota flaviventris*). *Journal of Comparative Physiology B:*

- Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 174(8), 633–639.
- Frank C. L., Dierenfeld E. S. & Storey K. B. (1998). The Relationship Between Lipid Peroxidation, Hibernation, and Food Selection in Mammals. *American Zoologist*, 38, 341–349.
- Frank C. L., Karpovich S. & Barnes B. M. (2008). Dietary fatty acid composition and the hibernation patterns in free-ranging arctic ground squirrels. *Physiological and Biochemical Zoology: PBZ*, 81(4), 486–495.
- Ganguly S., Coon S. L. & Klein D. C. (2002). Control of melatonin synthesis in the mammalian pineal gland: The critical role of serotonin acetylation. *Cell and Tissue Research*, 309(1), 127–137.
- Geiser F. (2004). Metabolic rate and body temperature reduction during hibernation and daily torpor. *Annual Review of Physiology*, 66: 239-74.
- Geiser F. (2013). Hibernation. *Current Biology*, 23(5), 188–193.
- Geiser F., Brigham M. The other functions of torpor. In: Ruf, T., Bieber, C., Arnold, W., Millesi, E. (eds). *Living in a seasonal world: thermoregulatory and metabolic adaptations*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2012, pp 109-121.
- Geiser F. & Ruf T. (1995). Hibernation versus daily torpor in mammals and birds: Physiological variables and classification of torpor patterns. *Physiological Zoology* (68) 6: 935-966.
- Gerhart-Hines Z., Rodgers J. T., Bare O., Lerin C., Kim S.H., Mostoslavsky R., Alt F. W., Wu Z., Puigserver, P. (2007). Metabolic control of muscle mitochondrial function and fatty acid oxidation through SIRT1/PGC-1alpha. *The EMBO Journal*, 26(7), 1913–23.
- Giroud S., Frare C., Strijkstra A., Boerema A., Arnold W. & Ruf T. (2013). Membrane Phospholipid Fatty Acid Composition Regulates Cardiac SERCA Activity in a Hibernator, the Syrian Hamster (*Mesocricetus auratus*). *PLoS ONE*, 8(5).
- Grahn D. A., Miller J. D., Houg V. S., Heller H. C. (1994). Persistence of circadian rhythmicity in hibernating ground squirrels. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 266(4 Pt 2): R1251-8.
- Greives T. J., Kingma S., Beltrami G. & Hau M. (2012). Melatonin delays clutch initiation in a wild songbird. *Biology Letters*, 8(3), 330–332.
- Guan H. P., Ishizuka T., Chui P. C., Lehrke M. & Lazar M. A. (2005). Corepressors selectively control the transcriptional activity of PPAR γ in adipocytes. *Genes and Development*, 19(4), 453–461.
- Hahn S., Mizuno T. M., Wu T. J., Wisor J. P., Priest C. A., Kozak C. A., Boozer N., Peng B., McEvoy R., Good P., Kelley K., Takahashi J. S., Pintar J. E., Roberts J. L., Mobbs C. V., Salton S. R. J. (1999). Targeted deletion of the Vgf gene indicates that the encoded secretory peptide precursor plays a novel role in the regulation of energy balance. *Neuron*, 23(3), 537–548.
- Hampton M., Nelson B. T. & Andrews M. T. (2010). Circulation and metabolic rates in a natural hibernator: an integrative physiological model. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 299(6), R1478–R1488.
- Hastings M. & Maywood E. S. (2000). Circadian clocks in the mammalian brain. *BioEssays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology*, 22, 23–31.
- Hattar S., Liao H. W., Takao M., Berson D. M., Yau K. W. (2002). Melanopsin- containing retinal ganglion cells: architecture, projections, and intrinsic photosensitivity. *Science* 295, 1065-1070.
- Hazlerigg D. & Loudon A. (2008). New Insights into Ancient Seasonal Life Timers. *Current Biology*, 18(17), 795–804.
- He W., Barak Y., Hevener A., Olson P., Liao D., Le J., Nelson M., Ong E., Olefsky J. M., Evans R. M. (2003). Adipose-specific peroxisome proliferator-activated receptor gamma knockout causes insulin resistance in fat and liver but not in muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(26), 15712–7.
- Heldmaier G., Ortmann S. & Elvert R. (2004). Natural hypometabolism during hibernation and daily

- torpor in mammals. *Respiratory Physiology and Neurobiology*, 141(3), 317–329.
- Heldmaier G., Steinlechner S., Rafael J. & Vsiansky P. (1981). Photoperiodic Control and Effects of Melatonin on Nonshivering Thermogenesis and Brown Adipose Tissue. *Science*, 212(4497), 917–919.
- Heldmaier G., Steinlechner S., Ruf T., Wiesinger H. & Klingenspor M. (1989). Photoperiod and thermoregulation in vertebrates: body temperature rhythms and thermogenic acclimation. *Journal of Biological Rhythms*, 4(2), 251–65.
- Heller H. C., Colliver G. W. & Beard J. (1977). Thermoregulation during entrance into hibernation. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, 369(1), 55–59.
- Herwig A., Saboureaux M., Pevet P. & Steinlechner S. (2007). Daily torpor affects the molecular machinery of the circadian clock in Djungarian hamsters (*Phodopus sungorus*). *European Journal of Neuroscience*, 26(10), 2739–2746.
- Hiebert S. M., Thomas E. M., Lee T. M., Pelz K. M., Yellon S. M. & Zucker I. (2000). Photic entrainment of circannual rhythms in golden-mantled ground squirrels: Role of the pineal gland. *Journal of Biological Rhythms*, 15(2), 126–134.
- Hofman M. A. (2004). The brain's calendar: neural mechanisms of seasonal timing. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 79(1), 61–77.
- Holness M. J., Bulmer K., Smith N. D. & Sugden M. C. (2003). Investigation of potential mechanisms regulating protein expression of hepatic pyruvate dehydrogenase kinase isoforms 2 and 4 by fatty acids and thyroid hormone. *The Biochemical Journal*, 369(Pt 3), 687–695.
- Humphries M. M., Thomas D. W. & Kramer D. L. (2003). The role of energy availability in Mammalian hibernation: a cost-benefit approach. *Physiological and Biochemical Zoology*, 76(2):165-79.
- Hut R. A. (2011). Photoperiodism: Shall EYA compare thee to a summers day? *Current Biology*, 21(1), R22–R25.
- Hut R. A., Barnes B. M. & Daan S. (2002). Body temperature patterns before, during, and after semi-natural hibernation in the European ground squirrel. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 172(1), 47–58.
- Hut R. A., Dardente H. & Riede S. J. (2014). Seasonal timing: How does a hibernator know when to stop hibernating? *Current Biology*, 24(13), R602–R605.
- Hut R. A., Van der Zee E. A., Jansen K., Gerkema M. P. & Daan S. (2002). Gradual reappearance of post-hibernation circadian rhythmicity correlates with numbers of vasopressin-containing neurons in the suprachiasmatic nuclei of European ground squirrels. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 172(1), 59–70.
- Ignat'ev D.A., Sukhova G.S., Sukhov V.P. (2001). Analysis of changes in heart rate and temperature of the ground squirrel *Citellus undulatus* in various physiological states. *Zhurnal Obshchei Biologii*, 62(1):66-77.
- Iliff B. W. & Swoap S. J. (2012). Central adenosine receptor signaling is necessary for daily torpor in mice. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 303(5), R477–84.
- Illnerová H. & Vaněček J. (1980). Pineal rhythm in N-acetyltransferase activity in rats under different artificial photoperiods and in natural daylight in the course of a year. *Neuroendocrinology*, 31(5):321-6.
- Inagaki T., Dutchak P., Zhao G., Ding X., Gautron L., Parameswara V., Li Y., Goetz R., Mohammadi M., Esser V., Elmquist J., Gerard R., Burgess S., Hammer R., Mangelsdorf D., Kliewer S. A. (2007). Endocrine Regulation of the Fasting Response by PPAR α -Mediated Induction of Fibroblast Growth Factor 21. *Cell Metabolism*, 5(6), 415–425.
- Jell R. M. (1974). Responses of rostral hypothalamic neurones to peripheral temperature and to

- amines, *The Journal of Physiology*, 240(2):295-307.
- Jing E., Emanuelli B., Hirschey M. D., Boucher J., Lee K. Y., Lombard D., Verdin E. M., Kahn, C. R. (2011). Sirtuin-3 (Sirt3) regulates skeletal muscle metabolism and insulin signaling via altered mitochondrial oxidation and reactive oxygen species production. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(35), 14608–14613.
- Jinka T. R., Tøien Ø. & Drew K. L. (2011). Season primes the brain in an arctic hibernator to facilitate entrance into torpor mediated by adenosine A1 receptors, *The Journal of Neuroscience*, 72(2), 181–204.
- Kabine M., El Kebbaj Z., Oaxaca-Castillo D., Clémencet M. C., El Kebbaj M. S., Latruffe N. & Cherkaoui-Malki M. (2004). Peroxisome proliferator-activated receptors as regulators of lipid metabolism; Tissue differential expression in adipose tissues during cold acclimatization and hibernation of jerboa (*Jaculus orientalis*). *Biochimie*, 86(11), 763–770.
- Kalaany N. Y., Gauthier K. C., Zavacki A. M., Mammen P. P. A., Kitazume T., Peterson J. A., Horton J. D., Garry D. J., Bianco A. C., Mangelsdorf, D. J. (2005). LXRs regulate the balance between fat storage and oxidation. *Cell Metabolism*, 1(4), 231–244.
- Kang H. S., Angers M., Beak J. Y., Wu X., Gimble J. M., Wada T., Xie W., Collins J. B., Grissom S. F., Jetten, A. M. (2007). Gene expression profiling reveals a regulatory role for ROR alpha and ROR gamma in phase I and phase II metabolism. *Physiological Genomics*, 31(2), 281–294.
- Karpovich S. A., Tøien Ø., Buck C. L. & Barnes B. M. (2009). Energetics of arousal episodes in hibernating arctic ground squirrels. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 179(6), 691–700.
- Kenagy, G. J. (1981). Effects of day length, temperature, and endogenous control on annual rhythms of reproduction and hibernation in chipmunks (*Eutamias ssp.*). *Journal of Comparative Physiology A*, 141(3), 369–378.
- Kilduff S., Sharp R., Craig H. & Diego S. (1982). [14C]2-deoxyglucose uptake in ground squirrel brain during hibernation. *The Journal of Neuroscience*, 2(2):143-57.
- Kim I., Ahn S.-H., Inagaki T., Choi M., Ito S., Guo G. L., Kliewer S. A., Gonzalez, F. J. (2007). Differential regulation of bile acid homeostasis by the farnesoid X receptor in liver and intestine. *Journal of Lipid Research*, 48(12), 2664–2672.
- Klosen P., Sébert M. E., Rasri K., Laran-Chich M. P. & Simonneaux V. (2013). TSH restores a summer phenotype in photoinhibited mammals via the RF-amides RFRP3 and kisspeptin. *FASEB Journal*, 27(7), 2677–2686.
- Klug B. J. & Brigham R. M. (2015). Changes to Metabolism and Cell Physiology that Enable Mammalian Hibernation. *Springer Science Reviews*, 3(1), 39–56.
- Kondo N. (2007). Endogenous circannual clock and HP complex in a hibernation control system. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 72: 607–613.
- Kondo N. & Kondo J. (1992). Identification of novel blood proteins specific for mammalian hibernation. *Journal of Biological Chemistry*, 267(1), 473–478.
- Kondo N., Sekijima T., Kondo J., Takamatsu N., Tohya K. & Ohtsu T. (2006). Circannual Control of Hibernation by HP Complex in the Brain. *Cell*, 125(1), 161–172.
- Körtner G. & Geiser F. (2000). The temporal organization of daily torpor and hibernation: Circadian and circannual rhythms. *Chronobiology International*, 17(2), 103–128.
- Kronfeld-Schor N., Richardson C., Silvia B. A., Kunz T. H. & Widmaier E. P. (2000). Dissociation of leptin secretion and adiposity during prehibernatory fattening in little brown bats. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 279, R1277-R1281.
- Lee Y., Miyake S., Wakita H., McMullen D. C., Azuma Y., Auh S. & Hallenbeck J. M. (2007). Protein SUMOylation is massively increased in hibernation torpor and is critical for the cytoprotection provided by ischemic preconditioning and hypothermia in SHSY5Y cells. *Journal*

- of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 27(5), 950–962.
- Le Gouic S., Delagrangé P., Atgié C., Nibbelink M., Hanoun N., Casteilla L., Renard P., Lesieur D., Guardiola-Lemaitre B., Ambid L. (1996). Effects of both a melatonin agonist and antagonist on seasonal changes in body mass and energy intake in the garden dormouse. *International journal of obesity and related metabolic disorders*, 20(7):661-7.
- Liang H. & Ward W. F. (2006). PGC-1 α : a key regulator of energy metabolism. *Advances in Physiology Education*, 30(4), 145–51.
- Lincoln G. A. (2006). Decoding the nightly melatonin signal through circadian clockwork. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 252(1-2), 69–73.
- Lincoln G. A., Anderson H. & Loudon A. (2003). Clock genes in calendar cells as the basis of annual timekeeping in mammals - A unifying hypothesis. *Journal of Endocrinology*, 179(1), 1–13.
- Lincoln G. A., Clarke I. J., Hut R. A. & Hazlerigg D. G. (2006). Characterizing a mammalian circannual pacemaker. *Science*, 314(2006), 1941–1944.
- Lincoln G. A., Johnston J. D., Andersson H., Wagner G. & Hazlerigg D. G. (2005). Photorefractoriness in mammals: Dissociating a seasonal timer from the circadian-based photoperiod response. *Endocrinology*, 146(9), 3782–3790.
- Lincoln G., Messenger S., Andersson H. & Hazlerigg D. (2002). Temporal expression of seven clock genes in the suprachiasmatic nucleus and the pars tuberalis of the sheep: evidence for an internal coincidence timer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(21), 13890–5.
- Loudon A. S., Ihara N. & Menaker M. (1998). Effects of a circadian mutation on seasonality in Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). *Proceedings. Biological Sciences / The Royal Society*, 265(1395), 517–21.
- Lundåsen T., Hunt M. C., Nilsson L. M., Sanyal S., Angelin B., Alexson S. E. H. & Rudling M. (2007). PPAR α is a key regulator of hepatic FGF21. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 360(2), 437–440.
- Lyman C. P. (1984). Pharmacological aspects of mammalian hibernation, *Pharmacology & Therapeutics*, 25 (3): 371–393.
- Malan A. (2010). Is the torpor-arousal cycle of hibernation controlled by a non-temperature-compensated circadian clock? *Journal of Biological Rhythms*, 25(3), 166–75.
- Malan A. The torpor-arousal cycle is controlled by an endogenous clock. In: Ruf, T., Bieber, C., Arnold, W., Millesi, E. (eds). *Living in a seasonal world: thermoregulatory and metabolic adaptations*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2012, pp 211-218.
- Martín M., Macías M., León J., Escames G., Khaldy H. & Acuña-Castroviejo D. (2002). Melatonin increases the activity of the oxidative phosphorylation enzymes and the production of ATP in rat brain and liver mitochondria. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 34(4), 348–357.
- Martinez De Mena R., Scanlan T. S. & Obregon M. J. (2010). The T3 receptor beta1 isoform regulates UCP1 and D2 deiodinase in rat brown adipocytes. *Endocrinology*, 151(10), 5074–5083.
- Masumoto K. H., Ukai-Tadenuma M., Kasukawa T., Nagano M., Uno K. D., Tsujino K., Horikawa K., Shigeyoshi Y., Ueda H. R. (2010). Acute induction of Eya3 by late-night light stimulation triggers TSH β expression in photoperiodism. *Current Biology*, 20(24), 2199–2206.
- Maury E., Moynihan Ramsey E., Bass J. Sleep, circadian rhythms and metabolism. In: Ashima, R. S. (eds), *Metabolic basis of obesity*. Springer, New York. 2011. pp 229-256.
- McCarron R. M., Sieckmann D. G., Yu E. Z., Frerichs K. & Hallenbeck J. M. Hibernation, a state of natural tolerance to profound reduction in organ blood flow and oxygen delivery capacity. In: Storey, K. B. (ed). *Molecular Mechanisms of Metabolic Arrest*. Oxford, BIOS Scientific, 2001,

pp 23–42.

- Melvin R. G. & Andrews M. T. (2010). Torpor induction in mammals: Recent discoveries fueling new ideas. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 20(10), 490–498.
- Minor J. G., Bishop D. A. & Badger Chester R. J. (1978). The Golden Hamster and the Blood-Borne Hibernation Trigger. *Cryobiology*, 562, 557–562.
- Monecke S., Wollnik F. (2004). European Hamsters (*Cricetus cricetus*) Show a Transient Phase of Insensitivity to Long Photoperiods after Gonadal Regression. *Biology of Reproduction*, 70(5), 1438–1443.
- Moore R. Y., Speh J. C. & Leak R. K. (2002). Suprachiasmatic nucleus organization. *Cell and Tissue Research*, 309(1), 89–98.
- Morin L. P. & Allen C. N. (2006). The circadian visual system, 2005. *Brain Research Reviews*, 51(1), 1–60.
- Morin P. & Storey K. B. (2006). Evidence for a reduced transcriptional state during hibernation in ground squirrels. *Cryobiology*, 53(3), 310–318.
- Morin P. & Storey K. B. (2009). Mammalian hibernation: Differential gene expression and novel application of epigenetic controls. *International Journal of Developmental Biology*, 53(2-3), 433–442.
- Nakane Y. & Yoshimura T. (2014). Universality and diversity in the signal transduction pathway that regulates seasonal reproduction in vertebrates. *Frontiers in Neuroscience*, 8, 1–7.
- Nakao N., Ono H., Yamamura T., Anraku T., Takagi T., Higashi K., Yasuo S., Yasuhiro K., Kageyama S., Yumiko U., Kasukawa T., Iigo M., Sharp P. J., Iwasawa A., Suzuki Y., Sugano S., Niimi T., Mizutani M., Namikawa T., Ebihara S., Ueda H. R., Yoshimura, T. (2008). Thyrotrophin in the pars tuberalis triggers photoperiodic response. *Nature*, 452(7185), 317–22.
- Naumenko V. S., Tkachev S. E., Kulikov A. V., Semenova T. P., Amerhanov Z. G., Smirnova N. P. & Popova N. K. (2008). The brain 5-HT_{1A} receptor gene expression in hibernation. *Genes, Brain and Behavior*, 7(3), 300–305.
- Nelson C. J., Otis J. P. & Carey H. V. (2009). A role for nuclear receptors in mammalian hibernation. *The Journal of Physiology*, 587(Pt 9), 1863–1870.
- Nelson B., Ding X., Boney-Montoya J., Gerard R., Kliever S., Andrews M. (2013). Metabolic Hormone FGF21 Is Induced in Ground Squirrels during Hibernation but Its Overexpression Is Not Sufficient to Cause Torpor. *PLoS One*, 8(1).
- Nieminen P., Mustonen A. M., Asikainen J. & Hyvärinen H. (2002). Seasonal weight regulation of the raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*): interactions between melatonin, leptin, ghrelin, and growth hormone. *Journal of Biological Rhythms*, 17(2), 155–163.
- Nosjean O., Ferro M., Cogé F., Beauverger P., Henlin J. M., Lefoulon F., Fauchere J. L., Delegrange P., Canet E., Boutin, J. A. (2000). Identification of the melatonin-binding site MT₃ as the quinone reductase 2. *Journal of Biological Chemistry*, 275(40), 31311–31317.
- Oeltgen P. R., Nilekani S. P., Nuchols P. A., Spurrier W. A. & Su T. P. (1988). Further studies on opioids and hibernation: Delta opioid receptor ligand selectively induced hibernation in summer-active ground squirrels. *Life Sciences*, 43(19), 1565–1574.
- Ohta H., Okamoto I., Hanaya T., Arai S., Ohta T. & Fukuda S. (2006). Enhanced antioxidant defense due to extracellular catalase activity in Syrian hamster during arousal from hibernation. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 143(4), 484–491.
- Oishi K., Shirai H. & Ishida N. (2005). CLOCK is involved in the circadian transactivation of peroxisome-proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) in mice. *The Biochemical Journal*, 386(Pt 3), 575–81.
- Okamoto I., Kayano T., Hanaya T., Arai S., Ikeda M., Kurimoto M. (2006). Up-regulation of an extracellular superoxide dismutase-like activity in hibernating hamsters subjected to oxidative

- stress in mid- to late arousal from torpor. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C Toxicology & Pharmacology*, 144(1):47-56.
- Paul M. J., Zucker I. & Schwartz W. J. (2008). Tracking the seasons: the internal calendars of vertebrates. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 363(1490), 341–361.
- Peet D. J., Turley S. D., Ma W., Janowski B. A., Lobaccaro J. M., Hammer R. E., Mangelsdorf D. J. (1998). Cholesterol and bile acid metabolism are impaired in mice lacking the nuclear oxysterol receptor LXR alpha. *Cell*, 93(5): 693-704.
- Pengelley E. T. & Fisher K. C. (1963). The Effect of Temperature and Photoperiod on the Yearly Hibernating Behavior of Captive Golden-Mantled Ground Squirrels (*Citellus Lateralis Tescorum*). *Canadian Journal of Zoology*, 41(6), 1103–1120.
- Pevet P., Masson-Pevet M., Hermes M. L. H. J., Buijs R. M. & Canguilhem B. How the pineal times the different seasonal functions, in *Neuroendocrinology: New Frontiers*, Gupta D., Wollmann H. A., Ranke M. B. (eds). Brain Research Promotion, London, 1990, 169.
- Peyron C., Tighe D. K., van den Pol N., de Lecea L., Heller H. C., Sutcliffe J. G. & Kilduff T. S. (1998). Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 18(23), 9996–10015.
- Picard F., Kurtev M., Chung N., Topark-Ngarm A., Senawong T., Machado De Oliveira R., Leid M., McBurney M., Guarente L. (2004). Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-gamma. *Nature*, 429(6993), 771–6.
- Popova N. K., Voronova I. P. & Kulikov A. V. (1993). Involvement of Brain Tryptophan-Hydroxylase in the Mechanism of Hibernation. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 46, 9–13.
- Prendergast B. J. (2005). Internalization of seasonal time. *Hormones and Behavior*, 48(5), 503–511.
- Prendergast B. J., Freeman D., Zucker I. & Nelson R. J. (2002). Periodic arousal from hibernation is necessary for initiation of immune responses in ground squirrels. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 282(4), R1054–R1062.
- Qiu X., Brown K., Hirschey M. D., Verdin E. & Chen D. (2010). Calorie restriction reduces oxidative stress by SIRT3-mediated SOD2 activation. *Cell Metabolism*, 12(6), 662–667.
- Raasmaja A. & Larsen P. R. (1989). α 1- and β -Adrenergic Agents Cause Synergistic Stimulation of the Iodothyronine Deiodinase in Rat Brown Adipocytes. *Endocrinology*, 125(5), 2502–2509.
- Ratigan E. D. & McKay D. B. (2015). Exploring principles of hibernation for organ preservation. *Transplantation Reviews*, 30 (1): 13-9.
- Reiter R. J., Tan D. X. & Lorena F. B. (2010). Melatonin: A multitasking molecule. *Progress in Brain Research*, 181, 127-151.
- Revel F. G., Ansel L., Klosen P., Saboureau M., Pévet P., Mikkelsen J. D. & Simonneaux V. (2007). Kisspeptin: A key link to seasonal breeding. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 8(1), 57–65.
- Revel F. G., Herwig A., Garidou M.-L., Dardente H., Menet J. S., Masson-Pévet M., Simonneaux V., Saboureau M., Pévet, P. (2007). The circadian clock stops ticking during deep hibernation in the European hamster. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(34), 13816–13820.
- Rodgers J. T., Lerin C., Haas W., Gygi S. P., Spiegelman B. M. & Puigserver P. (2005). Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1 α and SIRT1. *Nature*, 434(7029), 113–118.
- Ross A. W., Bell L. M., Littlewood P. A., Mercer J. G., Barrett P. & Morgan P. J. (2005). Temporal changes in gene expression in the arcuate nucleus precede seasonal responses in adiposity and reproduction. *Endocrinology*, 146(4), 1940–1947.

- Ross A. W., Webster C. A., Mercer J. G., Moar K. M., Ebling F. J., Schuhler S., Barret P., Morgan, P. J. (2004). Photoperiodic Regulation of Hypothalamic Retinoid Signaling: Association of Retinoid X Receptor γ with Body Weight. *Endocrinology*, *145*(1), 13–20.
- Rosser S. P. & Bruce D. S. (1978). Induction of Summer Hibernation in the 13-Lined Squirrel, *Citellus tridecemlineatus*, *Cryobiology*, *116*, 113–116.
- Rouble A. N. & Storey K. B. (2015). Characterization of the SIRT family of NAD⁺-dependent protein deacetylases in the context of a mammalian model of hibernation, the thirteen-lined ground squirrel. *Cryobiology*, *71*(2), 334–343.
- Ruby N. F., Dark J., Burns D. E., Heller H. C. & Zucker I. (2002). The suprachiasmatic nucleus is essential for circadian body temperature rhythms in hibernating ground squirrels. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *22*(1), 357–364.
- Ruby N. F., Dark J., Heller H. C. & Zucker I. (1996). Ablation of suprachiasmatic nucleus alters timing of hibernation in ground squirrels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *93*(18), 9864–9868.
- Ruf T. & Geiser F. (2015). Daily torpor and hibernation in birds and mammals. *Biological Reviews*, *90*(3), 891–926.
- Russell R. L., O’Neill P. H., Epperson L. E. & Martin S. L. (2010). Extensive use of torpor in 13-lined ground squirrels in the fall prior to cold exposure. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, *180*(8), 1165–1172.
- Saboureau M., Masson-Pévet M., Canguilhem B. & Pévet P. (1999). Circannual reproductive rhythm in the European hamster (*Cricetus cricetus*): demonstration of the existence of an annual phase of sensitivity to short photoperiod. *Journal of Pineal Research*, *26*(1), 9–16.
- Sáenz de Miera C., Hanon E. A., Dardente H., Birnie M., Simonneaux V., Lincoln G. A. & Hazlerigg D. G. (2013). Circannual Variation in Thyroid Hormone Deiodinases in a Short-Day Breeder. *Journal of Neuroendocrinology*, *25*(4), 412–421.
- Sáenz De Miera C., Monecke S., Bartzen-Sprauer J., Laran-Chich M. P., Pévet P., Hazlerigg D. G. & Simonneaux V. (2014). A circannual clock drives expression of genes central for seasonal reproduction. *Current Biology*, *24*(13), 1500–1506.
- Saitongdee P., Milner P., Becker D. L., Knight G. E. & Burnstock G. (2000). Increased connexin43 gap junction protein in hamster cardiomyocytes during cold acclimatization and hibernation. *Cardiovascular Research*, *47*(1), 108–115.
- Sallmen T., Lozada A. F., Anichtchik O. V., Beckman A. L., Leurs R. & Panula P. (2003). Changes in hippocampal histamine receptors across the hibernation cycle in ground squirrels. *Hippocampus*, *13*(6), 745–754.
- Sallmen T., Lozada A. F., Anichtchik O. V., Beckman A. L. & Panula P. (2003). Increased brain histamine H3 receptor expression during hibernation in golden-mantled ground squirrels. *BMC Neuroscience*, *4*, 24.
- Sallmen T., Lozada A. F., Beckman A. L. & Panula P. (2003). Intrahippocampal histamine delays arousal from hibernation. *Brain Research*, *966*(2), 317–320.
- Scanlan T. S., Suchland K. L., Hart M. E., Chiellini G., Huang Y., Kruzich P. J., Frascarelli S., Crossley D. A., Bunzow J. R., Ronca-Testoni S., Lin E., Hatton D., Zucchi R., Grandy D. K. (2004). 3-Iodothyronamine is an endogenous and rapid-acting derivative of thyroid hormone. *Nature Medicine*, *10*(6), 638–642.
- Selbach O., Brown R.E., Haas H.L. (1997). Long-term increase of hippocampal excitability by histamine and cyclic AMP. *Neuropharmacology*, *36*(11-12):1539-48.
- Seldin M. M., Byerly M. S., Petersen P. S., Swanson R., Balkema-Buschmann A., Groschup M. H. & Wong G. W. (2014). Seasonal oscillation of liver-derived hibernation protein complex in the central nervous system of non-hibernating mammals. *The Journal of Experimental Biology*,

- 217(Pt 15), 2667–2679.
- Sellayah D. & Sikder D. (2013). Food for thought: Understanding the multifaceted nature of orexins. *Endocrinology*, 154(11), 3990–3999.
- Semenova T. P., Onufriev M. V., Anoshkina I. A., Moiseeva Y. V., Kolaeva S. G., Gulyaeva N. V. & Fesenko E. E. (2004). The roles of monoamine oxidase form A (MAO A) and NO synthase in the mechanisms of the emergence from hibernation in the ground squirrel *Citellus undulatus*. *Doklady Biological Sciences*, 398(4), 403–405.
- Shearer K. D., Stoney P. N., Nanescu S. E., Helfer G., Barrett P., Ross A. W., Morgan P. J., McCaffery P. (2012). Photoperiodic expression of two RALDH enzymes and the regulation of cell proliferation by retinoic acid in the rat hypothalamus. *Journal of Neurochemistry*, 122(4), 789–799.
- Shinomiya A., Shimmura T., Nishiwaki-Ohkawa T. & Yoshimura, T. (2014). Regulation of seasonal reproduction by hypothalamic activation of thyroid hormone. *Frontiers in Endocrinology*, 5, 1–7.
- Schmid J, Speakman JR (2009) Torpor and energetic consequences in free-ranging grey mouse lemurs (*Microcebus murinus*): a comparison of dry and wet forests. *Naturwissenschaften*, 96: 609–620.
- Schwartz C., Ballinger M. & Andrews M. T. (2015). Melatonin receptor signaling contributes to neuroprotection upon arousal from torpor in thirteen-lined ground squirrels. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 309: R1292–R1300.
- Schwartz C., Hampton M. & Andrews M. T. (2013). Seasonal and Regional Differences in Gene Expression in the Brain of a Hibernating Mammal. *PLoS ONE*, 8(3).
- Schwartz C., Hampton M. & Andrews M. T. (2015). Hypothalamic gene expression underlying pre-hibernation satiety. *Genes, Brain and Behavior*, 14(3), 310–318.
- Simonneaux V. & Ribelayga C. (2003). Generation of the melatonin endocrine message in mammals: a review of the complex regulation of melatonin synthesis by norepinephrine, peptides, and other pineal transmitters. *Pharmacological Reviews*, 55(2), 325–395.
- Smith J. T., Clifton D. K. & Steiner R. A. (2006). Regulation of the neuroendocrine reproductive axis by kisspeptin-GPR54 signaling. *Reproduction*, 131(4), 623–630.
- Snapp B. & Heller H. C. (1981). Suppression of metabolism during hibernation in ground-squirrels (*Citellus lateralis*). *Physiological Zoology* 54, 3: 297-307.
- Song C. K. & Bartness T. J. (2001). CNS sympathetic outflow neurons to white fat that express MEL receptors may mediate seasonal adiposity. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 281, R666–R672.
- Staples J. F. J. (2014). Metabolic suppression in mammalian hibernation: the role of mitochondria. *The Journal of Experimental Biology*, 217(Pt 12), 2032–6.
- Stavinoha M., Rayspellicy J. W., Hart-Sailors M. L., Mersmann H. J., Bray M. S. & Young M. E. (2004). Diurnal variations in the responsiveness of cardiac and skeletal muscle to fatty acids. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 287(5), E878–87.
- Stoney P. N., Helfer G., Rodrigues D., Morgan, P. J. & McCaffery P. (2016). Thyroid hormone activation of retinoic acid synthesis in hypothalamic tanycytes. *Glia*, 64(3), 425–439.
- Storey K. B. (1997). Metabolic regulation in mammalian hibernation: Enzyme and protein adaptations. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Physiology*, 118(4), 1115–1124.
- Storey K. B. & Storey J. M. (2004). Metabolic rate depression in animals: transcriptional and translational controls. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 79(1), 207–233.
- Storey K. B. & Storey J. M. (2007). Tribute to P. L. Lutz: putting life on “pause”--molecular regulation of hypometabolism. *The Journal of Experimental Biology*, 210(Pt 10), 1700–1714.
- Storey K. B. & Storey J. M. (2010). Metabolic rate depression. The biochemistry of mammalian hibernation. *Advances in Clinical Chemistry*, 52: 77-108.

- Strijkstra A.M., Koopmans T., Bouma H. R., de Boer S. F., Hut R. A., Boerema A. On the Dissimilarity of 5'-AMP Induced Hypothermia and Torpor in Mice. In: Ruf, T., Bieber, C., Arnold, W., Millesi, E. (eds). *Living in a seasonal world: thermoregulatory and metabolic adaptations*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2012. pp 351-362.
- Sun J., Ma Y., Xu Z., Zhao W., Dong J. & Cai Y. (1998). Changes of characteristics of preoptic neurons and NA metabolism in hypothalamus of ground squirrel (*Citellus Dautieus*) in different seasons and hibernating phases. *Science in China. Series C, Life Sciences / Chinese Academy of Sciences*, 41(5), 488–97.
- Tamura Y., Shintani M., Inoue H., Monden M. & Shiomi H. (2012). Regulatory mechanism of body temperature in the central nervous system during the maintenance phase of hibernation in Syrian hamsters: Involvement of β -endorphin. *Brain Research*, 1448, 63–70.
- Tamura, Y., Shintani M., Nakamura A., Monden M. & Shiomi H. (2005). Phase-specific central regulatory systems of hibernation in Syrian hamsters. *Brain Research*, 1045(1-2), 88–96.
- Tan D. X., Manchester L. C., Fuentes-Broto L., Paredes S. D. & Reiter R. J. (2011). Significance and application of melatonin in the regulation of brown adipose tissue metabolism: Relation to human obesity. *Obesity Reviews*, 12(3), 167–188.
- Tøien Ø., Drew K. L., Chao M. L. & Rice M. E. (2001). Ascorbate dynamics and oxygen consumption during arousal from hibernation in Arctic ground squirrels. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 281(2), R572–83.
- Tupone D., Madden C. J., Cano G. & Morrison S. F. (2011). An orexigenic projection from perifornical hypothalamus to raphe pallidus. *Journal of Neuroscience*, 31(44), 15944–15955.
- Tupone D., Madden C. J. & Morrison S. F. (2013). Central activation of the A1 adenosine receptor (A1AR) induces a hypothermic, torpor-like state in the rat. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 33(36), 14512–25.
- Ueda S. & Ibuka N. (1995). An analysis of factors that induce hibernation in Syrian hamsters. *Physiology and Behavior*, 58(4), 653–657.
- van Breukelen F. & Martin S. L. (2015). The Hibernation Continuum: Physiological and Molecular Aspects of Metabolic Plasticity in Mammals. *Physiology (Bethesda, Md.)*, 30(4), 273–81.
- Vaněček J., Janský L., Illnerová H. & Hoffmann K. (1984). Pineal Melatonin in Hibernating and Aroused Golden Hamsters (*Mesocricetus Auratus*), *Comparative Biochemistry and Physiology*, 77(4):759-62.
- von Gall C., Garabette M. L., Kell C., Frenzel S., Dehghani F., Schumm-Draeger P.-M., Weaver D., Korf H. W., Hastings M., Stehle, J. H. (2002). Rhythmic gene expression in pituitary depends on heterologous sensitization by the neurohormone melatonin. *Nature Neuroscience*, 5(3), 234–238.
- Vucetic M., Stancic A., Otasevic V., Jankovic A., Korac A., Markelic M., Velickovic K., Golic I., Buzadzic B., Storey K. B., Korac, B. (2013). The impact of cold acclimation and hibernation on antioxidant defenses in the ground squirrel (*Spermophilus citellus*): An update. *Free Radical Biology and Medicine*, 65, 916–924.
- Wade G. N., Bartness T. J. (1984). Seasonal obesity in Syrian hamsters: effects of age, diet, photoperiod and melatonin. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 247(2 Pt 2):R328-34.
- Walton J. C., Weil Z. M. & Nelson R. J. (2011). Influence of photoperiod on hormones, behavior, and immune function. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 32(3), 303–319.
- Wang L. C. H. & Lee T. F. (1996). Torpor and hibernation in mammals: Metabolic, physiological, and biochemical adaptations. *Handbook of Physiology - Environmental Physiology*, 507–532.
- Wang P., Walter R. D., Bhat B. G., Florant G. L. & Coleman R. A. (1997). Seasonal changes in enzymes of lipogenesis and triacylglycerol synthesis in the golden-mantled ground squirrel (*Spermophilus lateralis*). *Comparative Biochemistry and Physiology - B Biochemistry and*

- Molecular Biology*, 118(2), 261–267.
- Watanabe T., Morimoto A., Murakami N. (1986). Effect of amine on temperature-responsive neuron in slice preparation of rat brain stem. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 250(4 Pt 2):R553-9.
- Weller J. L., Kendrick R. E. Photomorphogenesis and Photoperiodism in Plants. In: Björn, L. O. (ed). *Photobiology: The science of light and life*. Springer, New York. 2008. pp 417- 464.
- Williams C. T., Barnes B. M. & Buck C. L. (2012). Daily body temperature rhythms persist under the midnight sun but are absent during hibernation in free-living arctic ground squirrels. *Biology Letters*, 8(1), 31–4.
- Williams C. T., Barnes B. M., Richter M., Buck C. L. (2012). Hibernation and circadian rhythms of body temperature in free- living Arctic ground squirrels. *Physiological and Biochemical Zoology*, 85(4):397–404.
- Wilson B.E., Deeb S., Florant G.L. (1992). Seasonal changes in hormone-sensitive and lipoprotein lipase mRNA concentrations in marmot white adipose tissue. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 262(2 Pt 2):R177-81.
- Wilz M., Heldmaier G. (2000). Comparison of hibernation, estivation and daily torpor in the edible dormouse, *Glis glis*. *Journal of Comparative Physiology B*, 170: 511-521.
- Wood S. H., Christian H. C., Miedzinska K., Saer B. R. C., Johnson M., Paton B., Yu L., McNeilly J., Davis J. R. E., McNeilly A. S., Burt D. W., Loudon A. S. I. (2015). Binary Switching of Calendar Cells in the Pituitary Defines the Phase of the Circannual Cycle in Mammals. *Current Biology*, 25(20), 2651–2662.
- Wood S. & Loudon A. (2014). Clocks for all seasons: Unwinding the roles and mechanisms of circadian and interval timers in the hypothalamus and pituitary. *Journal of Endocrinology*, 222(2).
- Wu C. W., Biggar K. K. & Storey K. B. (2013). Biochemical adaptations of mammalian hibernation: Exploring squirrels as a perspective model for naturally induced reversible insulin resistance. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 46(1), 1–13.
- Wu C. W. & Storey K. B. (2012). Pattern of cellular quiescence over the hibernation cycle in liver of thirteen-lined ground squirrels. *Cell Cycle*, 11(9), 1714–1726.
- Wu Z., Puigserver P., Andersson U., Zhang C., Adelmant G., Mootha V., Troy A., Cinti S., Lowell B., Scarpulla R. C., Spiegelman B. M. (1999). Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. *Cell*, 98(1), 115–124.
- Yan J., Barnes B. M., Kohl F. & Marr T. G. (2008). Modulation of gene expression in hibernating arctic ground squirrels. *Physiological Genomics*, 32(2), 170–181.
- Yanovsky Y. & Haas H. L. (1998). Histamine increases the bursting activity of pyramidal cells in the CA3 region of mouse hippocampus. *Neuroscience Letters*, 240(2), 110–112.
- Yatani A., Kim S., Kudej R. K., Wang Q., Depre C., Irie K., Kranias E., Vatner S., Vatner D. E. (2004). Insights into cardioprotection obtained from study of cellular Ca²⁺ handling in myocardium of true hibernating mammals. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 286(6), H2219–28.
- Yoshimura T., Yasuo S., Watanabe M., Iigo M., Yamamura T., Hirunagi K. & Ebihara S. (2003). Light-induced hormone conversion of T4 to T3 regulates photoperiodic response of gonads in birds. *Nature*, 426(6963), 178–181.
- Yu L. C. & Cai Y. P. (1993). Effects of Opioid Receptors Antagonists Administration to Suprachiasmatic Nucleus on Hibernation of Ground-Squirrels *Citellus-Dauricus*. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Pharmacology Toxicology & Endocrinology*, 104(2), 249–252.
- Zhang Y., Lee F. Y., Barrera G., Lee H., Vales C., Gonzalez F. J., Willson T. M., Edwards P. (2006). Activation of the nuclear receptor FXR improves hyperglycemia and hyperlipidemia in diabetic

mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(4), 1006–1011.

Zhao Z. J. & Wang D. H. (2005). Short photoperiod enhances thermogenic capacity in Brandt's voles. *Physiology and Behavior*, 85(2), 143–149.