

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program:
Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor:
Molekulární biologie a biochemie organismů



Tereza Dvořáková

Molekulární mechanismy spánkové homeostáze
Molecular mechanisms of sleep homeostasis

Bakalářská práce

Vedoucí práce: Mgr. Veronika Spišská

Praha, 2020

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat své školitelce Mgr. Veronice Spišské za ochotu, trpělivost a cenné rady a opravy práce. Zároveň děkuji všem svým blízkým za podporu.

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, 6. 6. 2020

Tereza Dvořáková

Abstrakt

Spánek je základní fyziologický proces, na jehož řízení se podílí cirkadiánní systém s hlavním pacemakerem ležícím v suprachiasmatických jádrech hypothalamu (SCN) a spánková homeostáze odrážející čas strávený vzhůru.

Tato práce se zabývá základními charakteristikami spánku, popisuje model dvou procesů regulace spánku a teorii synaptické homeostáze, spojující synaptickou plasticitu a spánek. Dále popisuje funkci a principy cirkadiánního systému včetně syntézy melatoninu a principy homeostatické regulace spánku. V rámci spánkové homeostáze je věnována pozornost roli dopaminu, prostaglandinu D₂ a zejména adenosinu. Poté jsou popsány geny, které se účastní spánkové homeostáze a propojují tento proces se synaptickou plasticitou. Nakonec jsou zmíněny poruchy homeostatické regulace spánku u lidí trpících depresí a poslední kapitola se věnuje interakcím cirkadiánního a homeostatického procesu, zejména roli hodinových genů ve spánkové homeostázi.

Klíčová slova: spánek, cirkadiánní systém, spánková homeostáze, adenosin

Abstract

Sleep is an essential physiological process driven by a circadian system with its main endogenous pacemaker in the suprachiasmatic nucleus of hypothalamus (SCN) and by sleep homeostasis, a process reflecting time spent awake.

This work is focused on basic characteristics of sleep, describes the two process model of sleep regulation and sleep homeostasis theory which connects synaptic plasticity with sleep. Next it describes the function and principles of the circadian system including the synthesis of melatonin and the principles of homeostatic sleep regulation. Within the sleep homeostasis, the focus is on the role of dopamine, prostaglandin D₂ and especially adenosine. Next are discussed genes involved in sleep homeostasis and connecting it with synaptic plasticity. Last are mentioned alterations in homeostatic regulation of sleep in people suffering from depression and the final chapter focuses on the interactions between circadian and homeostatic process, particularly on the role of clock genes in sleep homeostasis.

Key words: sleep, circadian system, sleep homeostasis, adenosine

Seznam zkratek

AANAT – arylalkylamin N-acetyltransferáza
ADA – adenosin deamináza
ADH – vazopresin
ARC - aktivitou regulovaný protein asociovaný s cytoskeletem
BF – bazální přední mozek
bHLH – basic helix-loop-helix
BMAL1 – brain and muscle ARNT-like protein 1
CK – kasein kináza
CLOCK – circadian locomotor output cycles kaput
CPA - N⁶-cyklopentyladenosin
CREB – cAMP responzivní element vázající protein
CRY – cryptochrom
CUL3 – cullin 3
CV-C – crossveinless-c
DAG - diacylglycerol
DBP – D-box vazebný protein
DMH – dorzomediální jádra hypothalamu
DRN – dorzální rafeální jádro
EEG – elektroencefalografie
EMG – elektromyografie
ENT – rovnovážný nukleosidový přenašeč
EOG – elektrookulografie
ERK – extracelulárním signálem regulovaná kináza
FB – fan-shaped body
GABA – kyselina gama-aminomáselná
GCS – ganglion cervicale superior
GRK – G-proteiny aktivovaná kináza
GRP – gastrin uvolňující peptid
HIOMT – hydroxyindol-O-methyltransferáza
HLF – jaterní leukemický faktor
IML – intermediolaterální jádro míchy
INC - insomniac
IP₃ - inositol-1,4,5-trisfosfát
ipRGC – vnitřní fotosenzitivní gangliové buňky sítnice
LC – locus coeruleus

LDT – laterodorzální tegmentální jádro
L-PGDS – PGH₂ D-izomeráza lipokalinového typu
MCH – melanin koncentrující hormon
MnPO – mediální preoptické jádro
MPA – mediální preoptická oblast hypothalamu
NFIL3 – interleukin-3 regulovaný jaderný faktor
NPAS2 – nervový Per-Arnt-Sim-type signal-sensor protein- domain protein 2
NREM – non-REM
PACAP – hypofyzární adenylátcyklázu aktivující peptid
PAR – proteázou aktivované receptory
PB – parabrachiální jádro
PER – period
PG - prostaglandin
PIP₂ - fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát
PK – proteinkináza
PLC – fosfolipáza C
PPT – pedunkulopotinní tegmentální jádro
PUM - pumilio
PVN – paraventrikulární jádro
QR₂ – chinon reduktáza 2
REM – rapid eyes movement
RHT – retinohypothalamický trakt
ROR – retinoic acid-related orphan nuclear receptor
SCN – suprachiasmatická jádra
SH - shaker
sPVZ – subparaventrikulární zóna
SSS - sleepeless
SWS – spánek pomalých vln
TEF – tyreotropní embryonální faktor
TMN – tuberomamilární jádro
TRH – tyreotropin uvolňující hormon
VIP – vazoaktivní intestinální peptid
VLPO – ventrolaterální preoptické jádro
VTA – ventrální tegmentální oblast hypothalamu

Obsah

1	Úvod	1
2	Spánek	2
2.1	Non-REM Spánek	2
2.2	REM spánek	3
2.3	REM-NREM cyklus.....	4
3	Regulace spánku.....	5
3.1	Model dvou procesů.....	5
3.2	Teorie synaptické homeostáze	6
3.3	Neuroanatomie regulace spánku	7
4	Cirkadiánní systém	9
4.1	Synchronizace světelným cyklem	9
4.2	Melatonin	10
4.3	Smyčky hodinových genů	12
4.4	Cirkadiánní regulace spánku.....	14
5	Spánková homeostáze.....	15
5.1	Regulace spánkové homeostáze.....	16
5.1.1	Prostaglandin D ₂	16
5.1.2	Adenosin.....	17
5.2	Geny řídící spánkovou homeostázi.....	21
5.3	Poruchy ve spánkové homeostázi	23
6	Interakce spánkové homeostáze a cirkadiánní kontroly spánku	24
6.1	Vliv spánkové deprivace na SCN.....	24
6.2	Role hodinových genů ve spánkové homeostázi.....	25
7	Závěr.....	27
8	Seznam literatury	28

1 Úvod

Spánek je regulován pomocí dvou navzájem se doplňujících procesů. Jedním z nich je cirkadiánní proces řízený hlavním endogenním pacemakerem nacházejícím se v suprachiasmatických jádrech hypothalamu (SCN). Druhý proces je homeostatický, je přímo závislý na spánku a odráží spánkový dluh hromadící se během bdění. Proces spánkové homeostáze se dá spolehlivě měřit pomocí hodnot pomalé delta aktivity v nejhlubší fázi spánku a hodnot theta aktivity při bdění na elektroencefalografickém záznamu. Čím jsou tyto hodnoty vyšší, tím vyšší je homeostatický tlak na spánek (Borbély, 1982).

Cílem této práce je popsat oba procesy účastnící se regulace spánku se zvláštním důrazem na spánkovou homeostázi a její molekulární mechanismy. Potenciálními mediátory spánkové homeostáze jsou prostaglandin D₂ a adenosin, jemuž je věnována největší pozornost. Dále se práce soustředí na geny řídící homeostatický proces a zmiňuje i poruchy ve spánkové homeostázi spojené s onemocněním depresí.

V poslední kapitole je diskutována interakce mezi oběma procesy řídícími spánek, zejména poměrně rozsáhlé zapojení primárně cirkadiánních hodinových genů v homeostatickém procesu.

2 Spánek

Spánek lze charakterizovat jako behaviorální a fyziologický proces důležitý pro správnou funkci imunitního a endokrinního systému a dalších procesů nezbytných pro život. Spánek je definován prodlouženým reakčním časem, omezenou pohyblivostí, dočasnou ztrátou vědomí, zhoršením kognitivních funkcí a charakteristickými pohyby očí (Chokroverty, 2017*). Fyziologicky se spánek popisuje pomocí polysomnografických měření zahrnujících elektroencefalografii (EEG), elektrookulografii (EOG) a elektromyografii (EMG). Na základě těchto měření se spánek rozděluje na REM spánek (zkratka anglického rapid eyes movement, odkazující na rychlé pohyby očí charakteristické pro tuto fázi spánku) a non-REM spánek (NREM; Aserinsky a Kleitman, 1955), které se cyklicky střídají v průběhu noci. Průměrná délka jednoho cyklu u dospělého člověka je 90-100 minut (Hartmann, 1968; Globus, 1970; Březinová, 1974).

2.1 Non-REM Spánek

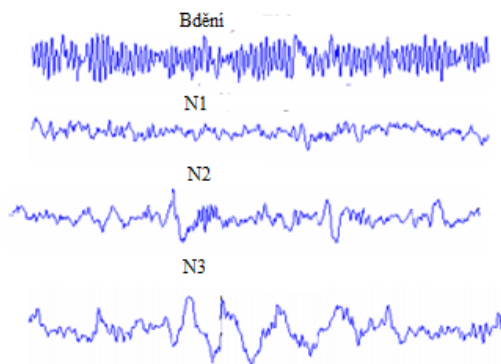
NREM spánek se, podle manuálu pro hodnocení spánku a přidružených jevů vydaného Americkou akademií spánkové medicíny v roce 2007, dělí do třech fází nazývaných N1, N2 a N3 na základě převládajících vln EEG (Obr. 1 – EEG záznam jednotlivých fází). Jsou pro něj charakteristické synchronizované kortikální vlny, nízký svalový tonus, minimální psychologická aktivita a pomalé pohyby očí a zabírá 75-80% z celkového trvání spánku. (Dement a Kleitman, 1957).

Fáze N1 se vyznačuje postupným útlumem alfa vln (8-12 Hz), které charakterizují bdění a velkým zastoupením theta vln o frekvenci 4-8 Hz. Objevují se i beta vlny s frekvencí vyšší než 13 Hz a EEG je v této fázi spánku nejméně synchronizované. Člověk se dá z N1 fáze spánku snadno probudit oslovením nebo letmým dotykem (Carskadon a Dement, 2011*).

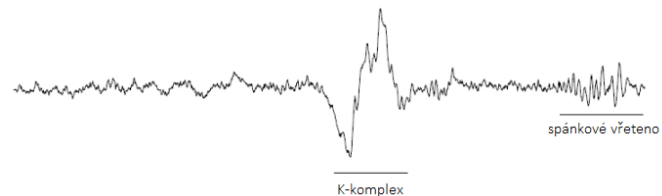
Pro fázi N2 jsou typické theta vlny přerušované spánkovými vřeteny a K-komplexy (Obr. 2). Spánková vřetena jsou vlny o frekvenci nejčastěji mezi 12 a 14 Hz, někdy se však uvádí rozmezí širší (11-15 Hz), trvající typicky 0,5-1 s. Mohou se vyskytovat samostatně nebo ve spojení s K-komplexem (Stern, 2005*). K-komplexy se skládají z několika frekvenčně odlišných částí. První z nich je rychlá, negativní vlna následovaná druhou, pomalejší vlnou v opačném směru. Obě vlny jsou obvykle následovány spánkovým vřetenem a jeden K-komplex trvá nejméně 0,5 s (Roth et al., 1956). Zároveň se již začínají objevovat i pomalé delta vlny. Tato fáze spánku je hlubší než fáze předchozí, stejné stimuly, které vedou k probuzení ve fázi N1 v ní zpravidla vyvolávají K-komplexy a spánková vřetena (Oswald et al., 1960).

Fáze N3, také nazývaná SWS (spánek pomalých vln, z anglického slow wave sleep) podle charakteristických pomalých delta vln (0,5 – 4 Hz), které se v ní vyskytují, je nejhlubší fází spánku. Původní systém fází N3 rozděloval na fáze 3 a 4 (Rechtschaffen a Kales, 1968). Delta vlny v této fázi tvoří okolo 50% EEG záznamu, při zvláště hlubokém spánku i více. V této fázi je zcela utlumena mentální aktivita a k probuzení člověka je potřeba silného stimulu, jakým je hlasité bouchnutí dveří, silné zatřesení dotýčným a podobně. SWS dominuje první třetině noci (Carskadon a Dement, 2011*, Chokroverty, 2017*).

Podle původních studií zabývajících se fázemi spánku ve vztahu ke snům (Aserinsky a Kleitman, 1955, Dement a Kleitman, 1957), se většina snů odehrává v REM spánku. Dle novějších výzkumů se však komplexní a nereálné sny vyskytují také v NREM spánku, z čehož pramení teorie, že mechanismus tvorby snů je nezávislý na fázi spánku (Oudiette et al., 2012). Výskytu snů v NREM i REM spánku předchází lokální útlum pomalých delta vln v posteriorní oblasti mozku (Siclari et al., 2017, 2018).



Obr. 1: EEG záznam bdělého člověka a člověka v různých fázích NREM spánku, trvající 10 vteřin. (převzato a upraveno dle Ebrahimi et al., 2008)

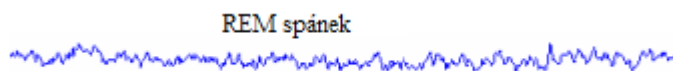


Obr. 2: EEG záznam fáze N2 NREM spánku. Vyznačen je K-komplex a spánkové vřetenno. (převzato a upraveno dle Shete et al., 2013)

2.2 REM spánek

REM spánek je charakterizován rychlými pohyby očí za zavřenými víčky, atonií kosterních svalů (s výjimkou okohybných svalů a bránice) a poměrně desynchronizovaným EEG záznamem, podobným tomu v N1 fázi spánku (Carskadon a Dement, 2011*). Původní výzkumy věnující se REM spánku ho úzce spojovaly se sněním (Dement a Kleitman, 1957), novější objevy nicméně teorii, že sny jsou výhradně záležitostí REM spánku, vyvrací a ukazují, že snění a REM spánek jsou pravděpodobně řízeny odlišnými mechanismy (Oudiette et al., 2012). EEG je podobné tomu v N1 fázi spánku, vyznačuje se nízkonapětovými vlnami vykazujícími alfa, beta a theta aktivitu (Dement a Kleitman, 1957, Williams et al., 1962,

Ebrahimi et al., 2008, Obr. 3). Během REM spánku se také objevují fázové změny v krevním tlaku, srdečním tepu a změny dechu, které jsou občas doprovázené úplnou chvilkovou ztrátou dechu. Dále se vyskytují trhavé pohyby obličejových svalů i končetin a pohyby jazyka (Chokroverty, 1980, Chokroverty, 2017*). REM spánek dominuje poslední třetině noci a odpovídá 20-25% z celkového trvání spánku mladého dospělého člověka (Floyd et al., 2007).



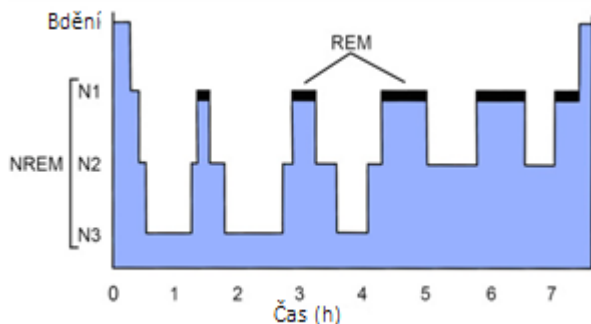
Obr. 3: EEG záznam člověka v REM spánku, trvající 10 vteřin. (převzato a upraveno Ebrahimi et al., 2008)

2.3 REM-NREM cyklus

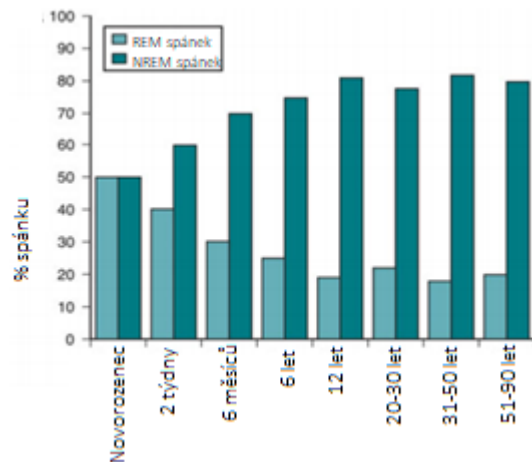
U zdravého dospělého člověka začíná spánek N1 fází s trváním 1-7 minut, pokračuje fází N2 dlouhou 10-25 minut a poté pomalovlnným spánkem, který v prvním cyklu trvá až 40 minut. Hluboký spánek je následován 5-10 minutami N2 spánku, po němž (přibližně po 70 minutách od usnutí) nastává REM spánek. REM spánek v prvním cyklu trvá jen několik minut, v následujících cyklech se však prodlužuje, až těsně před probuzením převládá. S postupujícím časem se naopak zkracuje délka fáze N3, ta se od páté hodiny po usnutí neobjevuje prakticky vůbec (Aserinsky a Kleitman, 1955, Dement a Kleitman, 1957, Obr. 4).

U novorozenců je cyklus spánku odlišný od dospělých. Cyklus u novorozenců začíná epizodou REM spánku, také nazývanou aktivní spánek a pokračuje NREM spánkem, nazývaným tichý spánek. Usínání počínající N1 fází NREM spánku se začíná objevovat v průběhu prvního roku života, stejně tak jako standardní rozložení NREM a REM fází v průběhu noci (Anders, 1978). Průměrná délka jednoho cyklu u novorozenců je 50 minut, délka 90-100 minut se ustavuje okolo desátého roku života. Během prvních dvou let klesá zastoupení aktivního (REM) spánku z 50% na 20-25% (Roffwarg et al., 1966, Anders, 1978, Scher, 2008*).

Spánek pomalých vln je nejintenzivnější a nejdelší u dětí, s přibývajícím věkem se jeho zastoupení snižuje a ubývá také jeho hloubka, stejně tak se ve stáří zhoršuje kvalita a snižuje délka spánku obecně. Klesá i zastoupení REM spánku, a to v průměru o 0,6% za 10 let od časné dospělosti do stáří (Floyd et al., 2007; Obr. 5). Jediná fáze spánku, která je u starých lidí silněji zastoupena než u mladých dospělých, je fáze N1, což může poukazovat na problémy s usínáním objevující se ve stáří. Snížení zastoupení pomalých vln je nejmarkantnější v anteriorní oblasti mozku (Landolt a Borbély, 2001).



Obr. 4: Cyklus NREM-REM spánku v průběhu noci u zdravého mladého dospělého člověka. (převzato a upraveno dle Scammell et al., 2017)



Obr. 5: Zastoupení REM a NREM spánku v závislosti na věku. (převzato a upraveno dle Chokroverty, 2017)

3 Regulace spánku

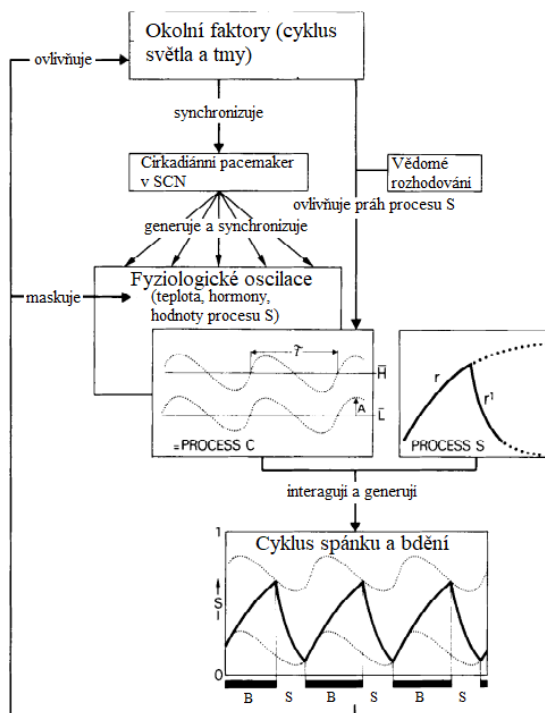
3.1 Model dvou procesů

Model dvou procesů regulace spánku byl poprvé popsán Alexandrem Borbélym v roce 1982. Podle původního modelu je cyklus spánku a bdění řízen na jedné straně procesem na něm závislým (nazvaným Proces S) a procesem cirkadiánním, na spánku nezávislým (Proces C).

Proces S odráží čas strávený vzhůru, v průběhu bdění se hromadí tlak povzbuzující ke spánku a během spánku pak tento tlak postupně klesá, až je nejnižší v momentě probuzení. Proces S koreluje s hloubkou non-REM spánku, především s trváním fáze N3, což dokazuje fakt, že po spánkové deprivaci je prodloužena doba trvání pomalých delta vln na úkor REM spánku, také se fáze N3 prohlubuje. REM spánek je naproti tomu řízen zejména cirkadiánním oscilátorem, neboť není příliš ovlivněn předchozí aktivitou nebo spánkovou deprivací. To dokazuje i převaha REM spánku v poslední třetině noci, kdy homeostatický tlak významně klesá. Střídání non-REM a REM spánku odráží vzájemné působení dvou procesů ovlivňujících spánek, zároveň jsou oba procesy ve větší či menší míře ovlivňovány i okolními faktory (Borbély, 1982, Daan et al., 1984; Obr. 6). Dalším důkazem podporujícím tento model jsou výzkumy zejména z 90. let na potkanech s poškozenými suprachiasmatickými jádry (SCN). Tato zvířata vykazují desynchronizaci cirkadiánních rytmů, jejich homeostatický proces ale narušený není (Trachsel et al., 1992).

Nestejný EEG záznam naměřený během spánku v různých oblastech mozku naznačuje, že oba procesy jsou neuroanatomicky oddělené. Elektroencefalogram NREM spánku vykazuje silný antero-posteriorní gradient s převahou nízkofrekvenčních delta vln ve fronto-centrální

oblasti mozku, kde jsou tyto vlny také nejintenzivnější a nejdéle přetrvávají. V REM spánku lze charakteristické EEG o smíšené frekvenci alfa a theta vln nejsilněji zaznamenat v posteriorní oblasti (Cajochen et al., 1999, Zavada et al., 2009). Výsledky těchto měření zpochybňují původní předpoklad, že aktivita pomalých vln přesně odráží funkci homeostatického procesu a poukazují na to, že takto zjišťované hodnoty Procesu S se mohou zásadně lišit v závislosti na tom, v jaké části mozku je EEG měřeno (Zavada et al., 2009).

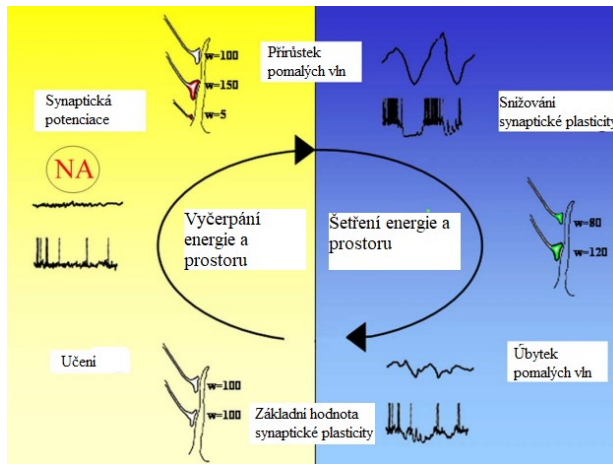


Obr. 6: Grafické znázornění modelu dvou procesů regulace spánku, jejich vzájemné interakce i interakce s okolním prostředím. H – práh procesu S, jehož dosažení iniciuje spánek, L – práh procesu S, v němž dochází k probuzení, B – bdění, S – spánek. (převzato a upraveno dle Daan et al., 1984)

3.2 Teorie synaptické homeostáze

Dalším navrženým modelem pro regulaci spánku je teorie synaptické homeostáze, podle které se synaptická plasticita a buněčné procesy v mozku během spánku obnovují. Tato teorie ztotožňuje Proces S s procesem synaptické homeostáze a tvrdí, že synaptická plasticita, stejně jako hodnota spánkové homeostáze, se zvyšuje v bdělém stavu, kdy dochází k učení a interakci s okolním prostředím, nejvyšší je těsně před usnutím a v průběhu spánku se snižuje (Tononi a Cirelli, 2003; Obr. 7). Jako marker obou procesů jsou i zde používány pomalé delta vlny, jejichž hodnota v NREM spánku je přímo závislá na míře dlouhodobé potenciace probíhající při bdění (Miyamoto et al., 2003, Tononi a Cirelli, 2003). Původní hypotéza, že na snižování synaptické síly v průběhu spánku se podílí výhradně spánková homeostáze, byla zpochybněna výsledky studií dokazujících, že i cirkadiánní regulace spánku má vliv na míru pomalých delta vln, vyskytujících se v průběhu spánku. Homeostatická modulace vln je i přes tyto nálezy silnější

než cirkadiánní modulační, zejména ve frontálních oblastech mozku. Výjimky tvoří amplituda pomalých vln v okcipitálním regionu a délka trvání pomalých vln v temporálním a okcipitálním regionu kortexu, které vykazují zejména cirkadiánní kontrolu (Lazar et al., 2015).



Obr. 7: Schématické znázornění teorie synaptické homeostázy. (převzato a upraveno dle Tononi a Cirelli, 2006)

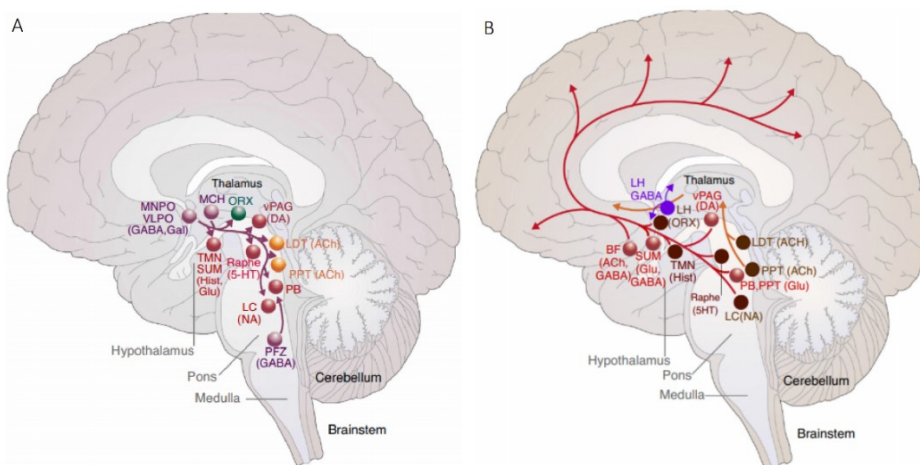
3.3 Neuroanatomie regulace spánku

Z neuroanatomického hlediska je cyklus spánku a bdění regulován vzájemnými interakcemi mezi strukturami mozku, které stimulují jeden ze stavů. Částí mozku podporující spánek je zejména ventrolaterální preoptické jádro (VLPO), jehož neurony obsahují inhibiční neurotransmitery kyselinu gama-aminomáselnou (GABA) a galanin (Sherin et al., 1998). Kromě něj spánek vyvolávají i GABAergní neurony mediálního preoptického jádra (MnPO; Gong et al., 2004). Systém udržující bdělost se skládá z bazálního předního mozku (BF), locus coeruleus (LC), dorzálního rafeálního jádra (DRN), tuberomamilárního jádra (TMN) a cholinergních neuronů laterodorzálního tegmentálního jádra (LDT) a pedunkulopontinního tegmentálního jádra (PPT; Obr. 8). Axony neuronů z oblasti VLPO a MnPO inervují, a tím negativně regulují neurony TMN, DRN a LC, a samy jsou z těchto jader inhibovány (Chou et al., 2002). Neurony LDT a PPT inervují různé oblasti thalamu, čímž přispívají k regulaci kortikální aktivity během bdění a REM spánku (Hallanger et al., 1987), zatímco LC, DRN a TMN udržují bdělost pomocí monoaminergních neuronů obsahujících histamin (TMN), serotonin (DRN) a noradrenalin (LC), jimiž inervují oblasti bazálního předního mozku a laterálního hypothalamu (Jones, 2003*).

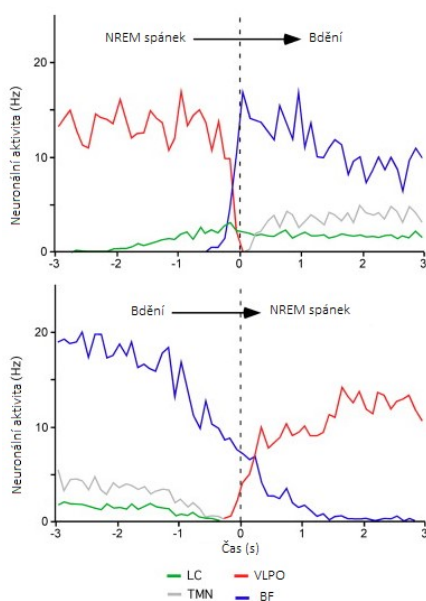
Pokusy zejména z 90. let označovaly LC, DRN a TMN za nejdůležitější jádra pro podporu bdění (Sherin et al., 1998, Steininger et al., 1999), novější výzkumy však odhalují mnohem důležitější roli GABA-ergních a cholinergních neuronů, jejichž axony vedou z parabrachiálního jádra (PB) do BF. V současnosti je BF, který obsahuje GABAergní, cholinergní a glutamatergní

neurony, považován za hlavní strukturu mozku udržující bdění, zatímco monoaminergní neurony mají především modulační úlohu (Fuller et al., 2011).

V oblasti laterálního hypothalamu se nacházejí neurony produkující neuropeptid orexin, také nazývaný hypokretin, jenž podporuje bdělý stav a chuť k jídlu. Tyto neurony mají zásadní roli v konsolidaci REM spánku a zvyšují aktivitu systému udržujícího bdělost, čímž inhibují VLPO. Nedostatek orexinu vede k onemocnění narkolepsií, která se vyznačuje poruchami v regulaci spánku a bdění, zejména patologií REM spánku, častým upadáním do spánku v neobvyklých časech a náhlými ztrátami svalového tonu (Chemelli et al., 1999). Model regulace je někdy nazýván „flip-flop“ kvůli způsobu, jakým se navzájem tlumí neurony zprostředkovávající bdění a spánek, ke změně signalizace dochází totiž najednou a organismus setrvává v přechodné době mezi bděním a spánkem jen krátce (Takahashi et al., 2009, Obr. 9).



Obr. 8: A: Oblasti mozku zprostředkovávající spánek, znázorněné fialově. B: Oblasti mozku podílející se na podpoře bdění, hlavní dráha je znázorněna červeně. (převzato a upraveno dle Saper a Fuller,



Obr. 9: Znáznění neuronální aktivity oblastí mozku podílejících se na podpoře bdění (LC, TMN, BF) a spánku (VLPO). Záznam dokazuje „flip-flop“ model regulace spánku a bdění. (převzato a upraveno dle Saper et al., 2010)

4 Cirkadiánní systém

Spánek je jedním ze základních a nejvíce prozkoumaných cirkadiánních rytmů a stejně jako další fyziologické a behaviorální procesy, jakými jsou cykly příjmu potravy, metabolismu, tělesné teploty a hladin hormonů v krvi, je kontrolován cirkadiánním systémem. Hlavní cirkadiánní pacemaker u savců se nachází v suprachiasmatických jádrech hypothalamu (SCN) ležících nad optickým chiasmatem. Charakteristikou cirkadiánních rytmů je endogenní perioda přibližná 24 hodinám, což znamená, že jsou řízeny vnitřně a probíhají i v prostředí s konstantními podmínkami (jako je například stálá tma nebo neměnná teplota). Vnější periodické cykly jsou však velmi důležité pro jejich synchronizaci k 24hodinovému dni (Cox a Takahashi, 2019*). Tato synchronizace je z největší části ovlivňována světelnými cykly.

Kromě hlavního cirkadiánního pacemakeru se biologické hodiny nacházejí v jisté míře ve všech tkáních těla. Cyklus světla a tmy je klíčovým synchronizátorem hlavního endogenního pacemakeru v SCN, které reguluje cykly příjmu potravy, tělesné teploty a hladinu glukokortikoidů, jimiž synchronizuje periferní hodiny (Schibler et al., 2015*).

4.1 Synchronizace světelným cyklem

SCN dostává informace o světelných stimulech z vnitřních fotosensitivních gangliových buněk sítnice (ipRGC) obsahujících pigment melanopsin (Hannibal et al., 2002, Hattar et al., 2002). Světelná informace je do SCN z ipRGC předávána prostřednictvím retinohypothalamického traktu (RHT; Moore et al., 1995). Melanopsin však není jediný nezbytný pigment pro přenos světla do SCN a stejně důležité jsou klasické opsiny v tyčinkách a čípcích (Van Diepen et al., 2013). Světlo synchronizuje endogenní periodu s vnějšími podmínkami tím, že posouvá fázi cirkadiánního pacemakeru v SCN. Večer světelný impuls fázi zpožďuje a brzy ráno naopak vede k jejímu předběhnutí (Slotten et al., 2005). Tento fázový posun je zprostředkován glutamátem a hypofyzárním adenylátcyklázou aktivujícím peptidem (PACAP), což jsou hlavní neurotransmitery RHT (Hannibal et al., 2000). Na světlo reaguje subpopulace neuronů nacházející se ve ventrolaterální části SCN, která je mnohem více inervována RHT než dorzomediální SCN. Dorzomediální část je světelný signál předáván zejména zprostředkovaně přes ventrolaterální část. Tyto neurony tvoří okolo 25% neuronální populace SCN u potkanů a jejich reakce se liší podle intenzity vnímaného světla (Rohling et al., 2011). Fázový posun účinně probíhá pouze tehdy, pokud spolu neurony v SCN interagují a efektivně si předávají signály, k čemuž dochází v případě, že jsou vysoce synchronizované. Neurony ve ventrolaterálním SCN vykazují vyšší synchronizaci než ty v dorzomediálním a

synchronizace neuronů se liší také v závislosti na ročním období. Kratší fotoperiody synchronizaci zvyšují, delší naopak způsobují reorganizaci neuronů SCN do dvou subpopulací s odlišnou fází (Evans et al., 2013).

Neurotransmitery vyskytující se přímo v SCN jsou GABA, vazomotorní intestinální peptid (VIP), peptid uvolňující gastrin (GRP) a vazopresin (ADH; Ramkisoensing a Meijer, 2015*). VIP se vyskytuje primárně v neuronech ventrolaterálního SCN, které dostávají světelnou informaci od neuronů RHT a zprostředkovává přesun této informace do dorzomediálního SCN. Zároveň je VIP nejdůležitějším synchronizujícím neurotransmiterem vylučovaným SCN. GABA je v SCN nejrozšířenější a dokáže neurony synchronizovat i desynchronizovat, při čemž vždy interaguje s VIP. Při dlouhých fotoperiodách, kdy jsou neurony reorganizovány do dvou populací s odlišnou fází, GABA spolupracuje s VIP a zprostředkovává synchronizaci neuronů. Při kratších fotoperiodách, v nichž jsou všechny neurony SCN ve stejné fázi, naopak přispívá k jejich desynchronizaci. V druhém případě aktivita VIP působí proti GABAergní signalizaci a neurony synchronizuje (Evans et al., 2013). U zvířat žijících v kratších fotoperiodách se pak v SCN vyskytuje především klasická inhibiční GABAergní transmise, zatímco při dlouhých fotoperiodách je výraznější méně obvyklá excitační aktivita GABA (Farajnia et al., 2014). Kromě toho GABA figuruje ve spojení mezi ventrálním a dorzálním SCN (Albus et al., 2005). Na synchronizaci neuronů v SCN se podílí také mezerové spoje (gap junctions), jimiž je velká část těchto neuronů propojena. Čím silnější je toto propojení, tím jsou neurony synchronizovanější. VIP pozitivně reguluje sílu spojení neuronů a jeho synchronizační účinky jsou pravděpodobně zprostředkovány elektrickými synapsemi. Pokud jsou totiž mezerové spoje zablokovány, VIP nemění stupeň synchronizace neuronů (Wang et al., 2014).

4.2 Melatonin

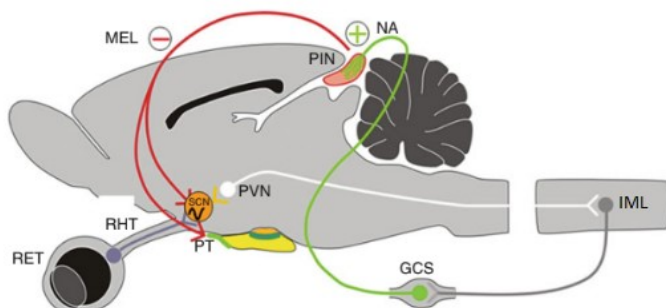
Dalším faktorem účastnícím se synchronizace cirkadiálních rytmů je melatonin, což je hormon produkováný pinealocyty epifýzy. Produkce melatoninu je spouštěna signály z SCN tak, aby probíhala vždy v noci, je však inhibována světlem. I krátký světelný impuls uprostřed noci způsobí prudké utlumení jeho produkce (Bojkowski et al., 1987). U potkanů držených ve stálé tmě je hladina melatoninu trvale zvýšena, i přes to však přetrvává cirkadiální rytmus a hladina je znatelně vyšší v období, kdy jsou potkani aktivní, než v době odpočinku, který by se normálně odehrával za světla (Ralph et al., 1971). Produkce melatoninu je také ovlivněna ročním obdobím, v důsledku dlouhých nocí je výrazně delší během zimy (Wehr, 1997). Exogenně podávaný melatonin posouvá fázi cirkadiálních hodin opačným směrem než světlo,

ve večerních hodinách působí jejich předbívání a v ranních hodinách naopak zpoždění (Burgess et al., 2010).

Syntéza melatoninu začíná přeměnou L-tryptofanu na serotonin pomocí enzymu tryptofan hydroxylázy, serotonin je dále arylalkylamin N-acetyltransferázou (AANAT) přeměněn na N-acetyl-5-hydroxytryptamin a z něj pomocí hydroxyindol-O-methyltransferázy (HIOMT) vzniká melatonin, který nezůstává skladován v epifýze, ale je okamžitě uvolňován do krevního oběhu (Berra a Rizzo, 2009*). Syntéza je řízena přímo z SCN, které vysílá GABAergní signály do paraventriculárního jádra (PVN), jehož neurony dále projikují do pregangliových sympatických neuronů intermediolaterálních jader míchy (IML). Neurony IML inervují ganglion cervicale superior (GCS) a postgangliové neurony GCS uvolňují noradrenalin na synapsích s pinealocyty epifýzy (Teclerian-Mesbah et al., 1999; Obr. 10). Noradrenalin je hlavním enzymem zprostředkovávajícím syntézu melatoninu během noci, tím že působí na dva subtypy adrenergických receptorů. Nejprve pomocí β_1 -adrenergických receptorů zvyšuje koncentraci intracelulárního cAMP, což aktivuje proteinkinázu A (PKA), která následně stimuluje aktivaci AANAT (Klein a Weller, 1970, Gastel, 1998, Ganguly et al., 2001). Dále noradrenalin působí na α_1 -adrenergické receptory, to vede ke zvýšení intracelulární hladiny vápníku. Vyšší koncentrace vápníku následně spolu s cAMP aktivuje AANAT (Yu et al., 1993). Mechanismy útlumu syntézy melatoninu během dne se liší mezi dvěma skupinami, u nichž byly zkoumány, a těmi jsou hlodavci a kopytníci. U hlodavců světlo způsobuje útlum transkripce *aanat* genu a zároveň zvyšuje rychlost proteosomální degradace AANAT, u kopytníků má vliv pouze na proteosomální degradaci a transkripce jím tlumena není (Maronde et al., 1999, Schomerus et al., 2002).

Melatonin ovlivňuje velké množství cirkadiálních a cirkanuálních (ročních) rytmů, například figuruje v navození spánku, má vliv na reprodukční cykly, krevní tlak i na imunitu, působí také jako antioxidant a cytostatikum (Berra a Rizzo, 2009*). Jeho role v synchronizaci cirkadiálních rytmů je zprostředkována dvěma melatoninovými membránovými receptory spřaženými s G-proteiny, nazývanými MT1 a MT2. Tyto receptory jsou hojně exprimovány v epifýze i SCN (Williams, 1989). Stimulace receptoru MT1 vede k akutní inhibici nervové aktivity SCN zprostředkované aktivací draslíkových kanálů (Liu et al., 1997). MT2 je naproti tomu hlavním receptorem umožňujícím fázový posun biologických hodin díky aktivaci fosfolipázy C (PLC), která štěpí fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát (PIP₂) na inositol-1,4,5-trisfosfát (IP₃) a diacylglycerol (DAG). DAG následně aktivuje proteinkinázu C (PKC), jejíž signální kaskáda zprostředkuje přenos světelného signálu (Hunt et al., 2001). Kromě MT1 a MT2 existuje ještě třetí receptor pro melatonin, MT3, který byl zkoumán u křečka a

charakterizován jako homolog lidského enzymu chinon reduktázy 2 (QR₂). Zásadou svých oxidoredukčních vlastností by QR₂ mohla hrát roli v antioxidačních účincích melatoninu (Nosjean et al., 2000).



Obr. 10: Schéma neuroanatomického spojení mezi SCN a epifýzou. RET – retina, RHT – retinohypothalamický trakt, SCN – suprachiasmatické jádro, PVN – paraventriculární jádro, IML – intermediolaterální jádro, GCS – ganglion cervicale superior, PIN – epifýza, NA – norepinefrin, MEL – melatonin, PT – pars tuberalis. (převzato a upraveno dle Korf a von Gall, 2016)

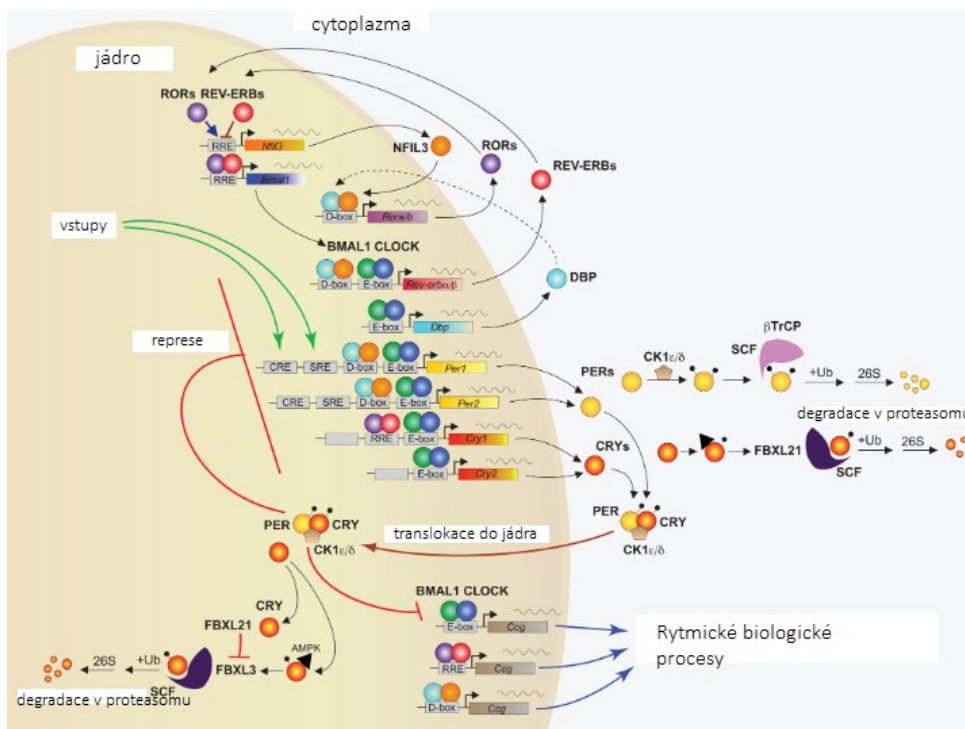
4.3 Smyčky hodinových genů

Na molekulární úrovni jsou cirkadiánní rytmy regulovány pomocí hodinových genů, které spolu interagují v transkripčně-translačních zpětnovazebných smyčkách, jejichž přibližná doba trvání je 24 hodin. Hodinové geny byly původně identifikovány při výzkumech na drozofilách (Konopka a Benzer, 1971), zde však budou uvedeny pouze geny účastníci se regulace u savců (Obr. 11). Základem primární regulační smyčky je gen *clock* (circadian locomotor output cycles kaput) a jeho vazebný partner *bmal1* (brain and muscle ARNT-like protein 1), jejichž proteinové produkty spolu tvoří heterodimer CLOCK/BMAL1 (Gekakis et al., 1998) a svými helix-loop-helix (bHLH) doménami se váží na regulační E-boxy genů *period1,2,3* (*per1,2,3*) a *cryptochrom1,2* (*cry1,2*). Navázáním spouští transkripci, jejíž produkty jsou represorové proteiny PER a CRY (Shearman et al., 2000). Tato regulace se odehrává přes den a vede k hromadění PER a CRY proteinů, PER proteiny jsou fosforylovány serin/threoninovými kinázami a kasein kinázami CK1 δ a CK1 ϵ (Eide et al., 2005, Narasimamurthy et al., 2018). Fosforylace PER proteinů umožňuje jejich translokaci do jádra v komplexu s CRY proteiny během noci (Lee et al., 2001), kde inhibují heterodimery CLOCK/BMAL1, čímž tlumí transkripci svých vlastních genů (Ye et al., 2011). Když je transkripce utlumena, dochází k označení proteinů PER a CRY ligázou E3, která je určuje k ubikvitinaci a degradaci v proteosomu. Následující ráno opět začíná transkripce *per* a *cry* zprostředkovaná CLOCK/BMAL1. Na nově vytvořeném BMAL1 jsou do té doby navázány hyperfosforylované proteinové komplexy zabráňující aktivaci transkripce a tvorbě CLOCK:BMAL1 komplexů v průběhu noci (Lee et al., 2001). Transkripce *per1* a *per2* je také umožněna navázáním cAMP

responzivního element vázajícího proteinu (CREB) na jejich promotory v důsledku aktivace pomocí melanopsinu. Tato dráha indukuje fázový posun cirkadiálního pacemakeru na světle (Trávníčková-Bendová et al., 2002).

V sekundární autoregulační smyčce heterodimer CLOCK/BMAL1 aktivuje transkripci genů kódujících jaderné receptory REV-ERB α a REV-ERB β (Preitner et al., 2002), které kompetují s receptorem kyseliny retinové příbuznými sirotčími receptory ROR α , ROR β a ROR γ o vazebná místa na promotoru *bmal1*. REV-ERB α a REV-ERB β tak zprostředkovávají negativní a ROR proteiny pozitivní regulaci transkripce BMAL1 (Sato et al., 2004, Bugge et al., 2012).

Terciární transkripčně-translační smyčka spočívá v CLOCK/BMAL1 zprostředkované transkripci D-box vazebného proteinu (DBP; Ripperger a Schibler, 2006), tyreotropního embryonálního faktoru (TEF) a jaterního leukemického faktoru (HLF), dohromady nazývaných PAR proteiny (proteázou aktivované receptory; Mitsui et al., 2001) a ROR/REV-ERB zprostředkované transkripci interleukin-3 regulovaného jaderného faktoru (NFIL3; Zhao et al., 2018). Tyto proteiny vzájemně interagují a váží se na promotory cirkadiálních genů, kde NFIL3 funguje jako represor a PAR proteiny jako aktivátory transkripce (Mitsui et al., 2001).



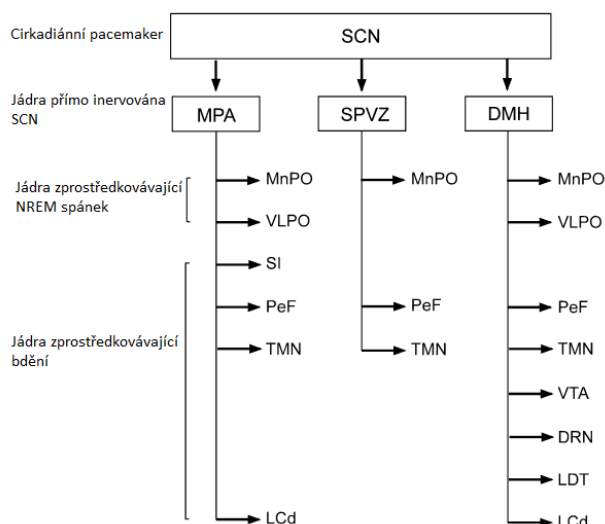
Obr. 11: Schéma znázorňující transkripčně-translační autoregulační smyčky. (převzato a upraveno dle Cox a Takahashi, 2019)

4.4 Cirkadiánní regulace spánku

Aktivita SCN je nejvyšší v průběhu dne a nejnižší v noci. U nočních druhů zvířat, jako jsou například myši, tedy jejich aktivní fáze koresponduje s nejnižší aktivitou SCN, u denních druhů je naopak SCN v době jejich nejvyšší činnosti nejaktivnější. K přechodu ze spánku do bdění a z bdění do spánku dochází při nervové aktivitě SCN, která je uprostřed mezi nejvyšší a nejnižší hodnotou (Houben et al., 2009). U člověka dosahuje cirkadiánní procesu vrcholu brzy večer a brání tak předčasnému usnutí vlivem homeostatického tlaku, během noci je jeho hodnota nízká a ráno se opět začíná zvyšovat (Borbély, 1982). Aktivita SCN se také periodicky snižuje během NREM spánku a zvyšuje během REM spánku nezávisle na cirkadiánní fázi (Deboer et al., 2003). Spánková deprivace ovlivňuje zejména homeostatickou složku regulace spánku tím, že zvyšuje procento pomalých delta vln v průběhu následujícího spánku. Kromě toho ale spánková deprivace až o 60% snižuje elektrickou aktivitu SCN, a to při NREM i REM spánku (Deboer et al., 2007).

Spánek je cirkadiánně řízen pomocí signalizace z SCN do mediální preoptické oblasti (MPA), subparaventriculární zóny (sPVZ) a dorsomediálních jader hypothalamu (DMH). Tyto oblasti pak signalizují do center zprostředkovávajících spánek, jimiž jsou VLPO a MnPO a center zprostředkovávajících bdění TMN, LC, DRN, LDT, ventrální tegmentální oblasti (VTA) a orexinergních neuronů laterálního hypothalamu (Deurveilher et al., 2002, Deurveilher a Semba, 2003, 2005, Obr. 12). DMH během dne vysílají GABAergní inhibiční signály do VLPO a MnPO. Do orexinergních neuronů laterálního hypothalamu vysílají DMH glutamát a tyreotropin uvolňující hormon (TRH), čímž nepřímo podporují bdění a tlumí spánek (Chou et al., 2003). Neurony MPA působí na systém spánku a bdění opačně, inhibují oblasti mozku zprostředkovávající bdění a excitují oblasti podporující spánek pomocí svých noradrenergických neuronů (Deurveilher a Semba, 2005).

Kromě těchto nepřímých spojení mezi SCN a oblastmi regulujícími spánek a bdění inervuje SCN tyto části mozku i přímo, přímé spojení je však mnohem slabší než spojení nepřímé. Přímá inervace VLPO zahrnuje GABAergní inhibiční synapse aktivní během dne a glutamátergní excitační synapse aktivní v noci (Sun et al., 2001). SCN také přímo inervuje neurony produkující hypokretin a melanin koncentrující hormon (MCH), které se nacházejí v posteriorním a laterálním hypothalamu a přispívají k podpoře bdění (Abrahamson et al., 2001).



Obr. 12: Schéma nepřímé inervace jader zodpovědných za regulaci spánku a bdění. MPA – mediální preoptická oblast, SPVZ – subparaventriculární zóna, DMH – dorsomediální jádro hypothalamu, MnPO – mediální preoptické jádro, VLPO – ventrolaterální preoptické jádro, SI – substantia innominata, PeF – perifornikální oblast hypothalamu, TMN – tuberomamilární jádro, LCd – dendrity neuronů locus coeruleus, VTA – ventrální tegmentální oblast hypothalamu, DRN – dorsální rafeální jádro, LDT – laterodorzální tegmentální jádro. (převzato a upraveno dle Deurveilher a Semba, 2005)

5 Spánková homeostáze

Homeostatický proces regulace spánku odráží spánkový dluh hromadící se za bdělého stavu a snižující se úměrně s délkou spánku (Borbély, 1982, Daan et al., 1984, kapitola 3.1). S prodlužujícím se bděním dochází u lidí ke zvýšení theta aktivity a po spánkové deprivaci rovné jedné probdělé noci se během další noci zvyšuje procento SWS v EEG záznamu NREM spánku. Oba tyto procesy jsou nejvýraznější v bazálním předním mozku, z čehož vyplývá, že tato oblast nejlépe odráží homeostatickou regulaci spánku (Finelli et al., 2000). U potkanů a dalších hlodavců lze rozdělit bdění na aktivní, kdy se zvířata pohybují, přijímají potravu a interagují spolu navzájem a na tiché, kdy jsou v klidu a odpočívají. Během aktivního bdění na EEG záznamu převládá theta aktivita, během tichého bdění se objevuje i aktivita pomalých vln. Pokud jsou potkani spánkově deprivováni, zvyšuje se hodnota theta aktivity v průběhu tichého bdění, což má za důsledek zvýšení aktivity pomalých vln během následující spánkové epizody. Tyto výsledky ukazují na univerzální řízení homeostatického procesu mezi různými druhy (Vyazovskiy a Tobler, 2005).

Odpověď EEG záznamu na spánkovou deprivaci se liší u lidí přirozeně spících krátkou a dlouhou dobu. Jedinci s přirozenou dobou spánku kratší než 6 hodin vykazují během spánkové deprivace trvale vyšší hodnoty theta aktivity než ti, jejichž přirozená doba spánku je delší než 9 hodin. Rychlost nárůstu theta aktivity během bdění a pokles delta aktivity během následného spánku je však u obou skupin shodná a homeostatický proces tedy funguje u všech stejně nehledě na délku spánku. Z těchto měření vyplývá, že lidé přirozeně spící kratší dobu mají přirozeně vyšší toleranci k homeostatickému tlaku než lidé přirozeně déle spící. Toto tvrzení

podporuje i fakt, že první skupina lidí pociťuje během spánkové deprivace menší únavu než druhá skupina (Aeschbach et al., 2001).

5.1 Regulace spánkové homeostáze

Dosud není zcela známo, jaké látky jsou mediátory homeostatické regulace spánku, nejprozkoumanější v tomto ohledu je však role adenosinu, jehož hromadění v mozku, zejména v bazálním předním mozku, je spojeno s dlouhodobým bděním (Porkka-Heiskanen et al., 2000). Nezpochybnitelné jsou také spánek vyvolávající účinky prostaglandinu D₂ (PGD₂) i jeho interakce s adenosinem (Urade a Hayaishi, 2011*). Pozornost je v tomto ohledu věnována také dopaminu, jehož hladina v mozku se stejně jako hladina adenosinu zvyšuje s časem stráveným vzhůru. Dopamin je však na rozdíl od dále diskutovaného adenosinu a PGD₂ zprostředkovatelem bdění, a ne spánku a jeho hromadění v průběhu spánkové deprivace představuje pokusy organismu odporovat zvyšujícímu se tlaku na spánek (Volkow et al., 2008).

Dopamin se váže na pět typů dopaminergních receptorů, D₁-D₅. Receptory D₁ a D₅ mají 60% sekvenční homologie a řadí se tedy do stejné skupiny, na rozdíl od ostatních tří receptorů, se kterými jsou příbuzné pouze z 25%. Receptory D₂, D₃ a D₄ také vykazují vysokou homologii, činící 50-70%. Všechny dopaminové receptory patří mezi receptory spřažené s G proteiny (Sokoloff et al., 2006*).

Dopaminovým receptorem účastnícím se regulace spánku a bdění je D₂. Myši s genetickou delecí D₂ receptoru spí více, mají sníženou delta aktivitu během NREM spánku a usínají po kratší době strávené vzhůru než normální myši. Raclopride, selektivní antagonist D₂ receptoru, dále podporuje teorii o roli tohoto receptoru v indukci bdění. Aplikace raclopride zrychluje usínání normálních myši (Qu et al., 2010). D₂ receptor je exprimován především v caudate putamen, nucleus accumbens a tuberculum olfactorium (Sokoloff et al., 2006*), tedy v oblastech mozku, ve kterých se nejhojněji vyskytuje i receptor A_{2A}, což je hlavní adenosinový receptor účastnící se regulace spánku, jak bude popsáno dále. Tyto receptory, mající opačné efekty, spolu pravděpodobně za normálních okolností interagují při řízení spánku a bdění (Huang et al., 2011*).

5.1.1 Prostaglandin D₂

Prostaglandiny jsou deriváty polynenasycených mastných kyselin s 20 uhlíky, vznikající dvoustupňovou přeměnou z kyseliny arachidonové. Kyselina arachidonová je pomocí enzymu cyklooxygenázy/PGH syntázy přeměněna na prostaglandin H₂ (PGH₂), ze kterého terminální PGD syntáza tvoří PGD₂ (Urade a Hayaishi, 2011*). Mikroinjekce PGD₂ do preoptické oblasti

potkana rapidně zvyšuje výskyt NREM spánku (Ueno et al., 1982). U makaků dochází po injekci PGD₂ do třetí mozkové komory k 3-4x delšímu spánku oproti kontrolám (Onoe et al., 1988). Koncentrace PGD₂ v mozkomíšním moku potkanů vykazuje cirkadiánní rytmus, přičemž je nejvyšší přes den, kdy zvířata spí a nejnižší v noci, kdy jsou aktivní a zvyšuje se také vlivem spánkové deprivace (Ram et al., 1997).

PGD₂ se váže na dva typy receptorů. Prvním z nich je receptor DP₁ spřažený s G_s proteinem, jehož aktivace zvyšuje hodnoty cAMP (Hirata et al., 1994). Druhým je DP₂, receptor spřažený s G_i proteinem indukující chemotaxi v imunitních pomocných T buňkách (Hirai et al., 2001). Hlavním prostaglandinovým receptorem účastnícím se regulace spánku je DP₁, který se vyskytuje především v BF blízko VLPO a TMN. Myši s genetickou delecí DP₁ nevykazují po injekci PGD₂ žádný nárůst spánku na rozdíl od kontrolních myší. Aplikace PGD₂ do BF myší indukuje spánek skrze zvýšení koncentrace adenosinu v této oblasti. Adenosin zde pak vykonává svou funkci pomocí vazby na A_{2A} receptory. Mechanismus, jakým PGD₂ zvyšuje koncentraci adenosinu, je však dosud nejasný (Mizoguchi et al., 2001).

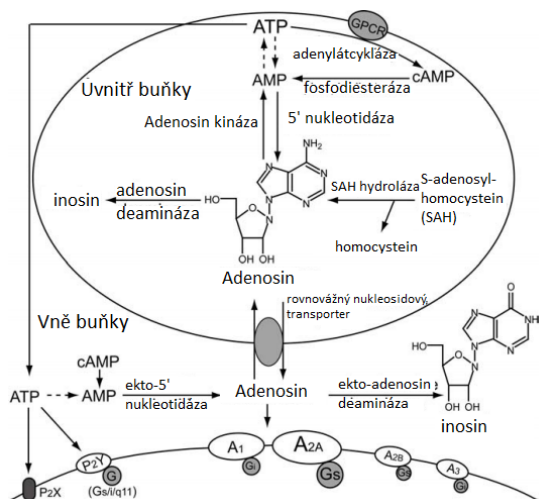
Kromě DP₁ se prostaglandinového řízení spánku účastní enzym PGH₂ D-izomeráza lipokalinového typu (L-PGDS), jehož koncentrace v lidském séru vykazuje cirkadiánní rytmus s nejvyššími hodnotami během noci, které jsou však potlačeny vlivem spánkové deprivace (Jordan et al., 2004). Myši s knock-outovanou L-PGDS ztrácejí schopnost normálních myší akumulovat PGD₂ v mozku během spánkové deprivace, což vede ke ztrátě adekvátní homeostatické odpovědi při následujícím spánku (Urade a Hayaishi, 2011*). Selektivní inhibice L-PGDS pomocí SeCl₄ i aplikace antagonisty DP₁ do myšího mozku znatelně snižují množství NREM i REM spánku (Qu et al., 2006).

5.1.2 Adenosin

V průběhu bdělého stavu dochází k akumulaci adenosinu v mozku, zejména v oblasti BF. V průběhu následujícího spánku v této oblasti hodnoty adenosinu nejpomaleji klesají (Porkka-Heiskanen et al., 2000). Aplikace agonisty adenosinu do extracelulárního prostoru BF aktivních zvířat narušuje bdělost a aktivuje hlavní spánek podporující oblast mozku, VLPO (Scammell et al., 2001).

Adenosin je tvořen zejména intracelulárně převedením cAMP nebo ATP na AMP a z něj pomocí enzymu 5'nukleotidázy. Také může intracelulárně vznikat hydrolyzou S-adenosylhomocysteinu (SAH), tato cesta však v mozku nehraje příliš velkou roli (Huang et al., 2011*). Intracelulární adenosin je transportován do extracelulárního prostoru pomocí obousměrně pracujících rovnovážných nukleosidových přenašečů 1 a 2 (ENT1 a ENT2), jedenáctkrát

procházejících membránou. Tyto přenašeče zodpovídají za rovnovážné rozmístění adenosinu v intra- a extracelulárním prostoru (Crawford et al., 1998, Griffiths et al., 1997). Mimo buňky adenosin vzniká přeměnou extracelulárního ATP na AMP a následnou hydrolýzou na adenosin enzymem ekto-5'-nukleotidázou (Dunwiddie et al., 1997). Intracelulárně je adenosin odstraňován pomocí adenosin kinázy, která z něj tvoří AMP a ireverzibilní přeměnou na inosin řízenou enzymem adenosin deaminázou (ADA). ADA se vyskytuje a mění adenosin na inosin i v extracelulárním prostoru (Delaney a Geiger, 1998; Obr. 13).



Obr. 13: Intracelulární a extracelulární cesty tvorby a metabolismu adenosinu. (převzato a upraveno dle Huang et al., 2011)

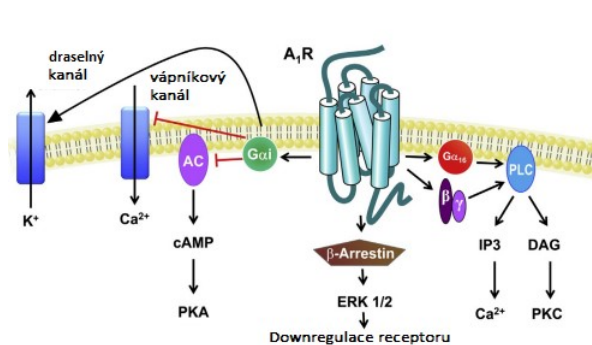
Koncentrace adenosinu v extracelulárním prostoru striata za bazálního stavu se pohybuje mezi 40 a 460 nM (Ballarín et al., 1991) a jeho úloha v mozku je zejména neuromodulační. Reguluje tak synaptickou plasticitu, excitabilitu a vylučování neurotransmiterů glutamátu, GABA, acetylcholinu a dopaminu (Chen et al., 2014*). Adenosin se váže na čtyři typy receptorů spřažených s G proteiny, nazývaných A_1 , A_{2A} , A_{2B} a A_3 , které se vyskytují v různé míře v celém těle (Fredholm et al., 2011*).

Receptor A_1 je spřažený s G_i a G_o proteiny, je exprimován ve většině tkání lidského těla a zároveň je nejhojnějším adenosinovým receptorem v mozku, kde je jeho exprese nejsilnější v neuronech kortexu, hipokampu a mozečku. Navázání adenosinu na A_1 receptor inhibuje adenylátcyklázu pomocí α podjednotky G_i nebo G_o proteinu, což vede ke snížení produkce cAMP, a tím i k inhibici cAMP-dependentní PKA (Carruthers et al., 2001). Zároveň aktivace A_1 receptoru pomocí α podjednotky G_i/G_o proteinu otevírá kanály pro K^+ a zavírá kanály pro Ca^{2+} . Snížení produkce cAMP a zavírání Ca^{2+} kanálů inhibuje výlev GABA (Jeong et al., 2003). Pomocí $\beta\gamma$ podjednotek G_i/G_o proteinu A_1 receptor aktivuje PLC, která štěpí PIP_2 na IP_3 a DAG, DAG poté aktivuje PKC. Jelikož je afinita $\beta\gamma$ podjednotek k jejich cílovému enzymu podstatně nižší než afinita α podjednotek, je pro aktivaci PLC potřeba vyšší koncentrace A_1 receptorů než pro inhibici PKA (Biber et al., 1997). Signální dráha aktivující PKC má význam především

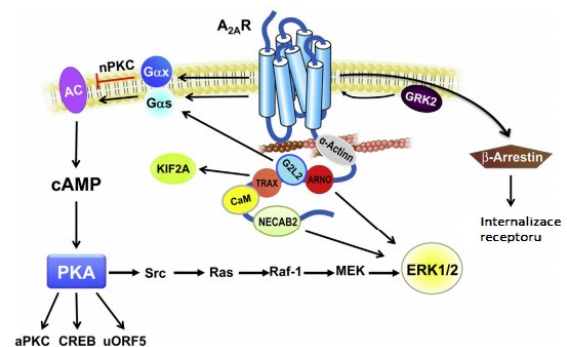
v kardiomyocytech, kde zprostředkovává ochranné účinky adenosinu během ischemie (Fenton et al., 2010). V reakci na aktivaci A_1 receptoru dochází k translokaci β -arrestinu 1 na plazmatickou membránu, a tím ke stimulaci extracelulárním signálem regulované kinázy 1 a 2 (ERK1/2). Fosforylací A_1 receptoru pomocí ERK1/2 dochází k jeho inhibici. Interakci A_1 receptoru s β -arrestinem 1 umožňuje G-proteiny aktivovaná kináza 2 (GRK2), která nejprve fosforyluje $\beta\gamma$ podjednotky G proteinu asociovaného s A_1 receptorem (Jajoo et al., 2010, Obr. 14).

Receptor A_{2A} je spřažený s G_s , G_x a G_{olf} proteiny. Jeho exprese je nejvýraznější ve striatu, nucleus accumbens a tuberculum olfactorium, vyskytuje se však v menší míře i v dalších oblastech mozku, stejně jako v srdci, retině a krevních buňkách. Stimulace A_{2A} receptoru aktivuje adenylátcyklázu pomocí α podjednotky G_s proteinu, čímž zvyšuje hladinu cAMP a aktivuje PKA (Gubituz et al., 2002). PKA se účastní několika signalizačních drah včetně aktivace transkripčních faktorů, které řídí transkripci genů důležitých pro neuronální plasticitu (Chen et al., 2014*). Zároveň je pomocí A_{2A} receptoru aktivována PKC, která spouští další signální kaskády a inhibuje adenylátcyklázu (Lai et al., 1997). A_{2A} receptor je stejně jako A_1 receptor desenzitizován pomocí β -arrestinu 1 a internalizován (Chen et al., 2014*, Obr. 15).

Receptory A_{2B} a A_3 se vyskytují v malé míře v různých tkáních mimo CNS a velmi spíše jsou také exprimovány ve všech oblastech mozku (Dixon et al., 1996). Poslední dva zmíněné receptory se neúčastní regulace spánku (Chen et al., 2014*), a proto se jimi nebudu dále zabývat.



Obr. 14: Signalizace pomocí adenosinového receptoru A_1 . PKA – proteinkináza A, AC – adenylátcykláza, ERK1/2 – extracelulárním signálem regulovaná kináza, PLC – fosfolipáza C, IP3 – inositoltrisfosfát, DAG – diacylglycerol, PKC – proteinkináza C. (převzato a upraveno dle Chen et al., 2014)



Obr. 15: Signalizace pomocí adenosinového receptoru A_{2A} . nPKC – (nová) proteinkináza C, AC – adenylátcykláza, PKA – proteinkináza A, CREB – cAMP responzivní element vázající protein. (převzato a upraveno dle Chen et al., 2014)

Díky vysoké expresi A_1 receptoru v mozku byl tento receptor původně považován za nejdůležitější v řízení účinků adenosinu na spánek, v současnosti je však větší pozornost věnována A_{2A} . Aplikace selektivního agonisty A_{2A} receptoru, CGS21680, do preoptické oblasti potkanů vyvolává NREM spánek. Selektivní agonista A_1 receptorů, N^6 -cyklopentyladenosin (CPA), na druhou stranu kromě mírného útlumu REM spánku nevyvolává žádné změny (Scammell et al., 2001). GCS21680 aplikovaný do BF potkanů také indukuje spánek a inhibuje vylučování histaminu ve frontálním kortexu. Vzhledem k tomu, že sekrece histaminu negativně koreluje s množstvím NREM spánku, mohl by právě toto být mechanismus, kterým adenosin a jeho agonisté indukují spánek skrze A_{2A} receptory. Zároveň GCS21680 podporuje vylučování GABA v histaminergním TMN, čímž tlumí neurony zprostředkovávající bdění (Hong et al., 2005).

Na roli adenosinu v regulaci spánku byla zaměřena obecná pozornost díky stimulačním účinkům nejznámějšího antagonisty A_1 a A_{2A} receptorů, kofeinu. Kofein podávaný spánkově deprivovaným lidem snižuje únavu a EEG theta aktivitu a redukuje pomalou delta aktivitu během následujícího spánku. Svými účinky na adenosinové receptory tedy tlumí hromadění tlaku na spánek (Landolt et al., 2004). Podávání kofeinu podporuje bdění u normálních myší i u myší s chybějícími A_1 receptory, ne však u myší bez A_{2A} receptorů. Toto zjištění naznačuje, že ačkoli kofein je i antagonistou A_1 receptorů, ty pravděpodobně nejsou pro jeho stimulační účinky nezbytné a jeho funkce je zprostředkována pomocí receptorů A_{2A} (Huang et al., 2005). Výzkum mapující oblasti mozku, ve kterých se vyskytují A_{2A} receptory, označil neurony „obalu“ nucleus accumbens jako zodpovědné za zprostředkování odpovědi na kofein. Pokud jsou A_{2A} receptory v této oblasti mozku potkanů ponechané a ve všech ostatních oblastech odstraněné, účinky kofeinu se projevují standardně (Lazarus et al., 2011).

CPA, agonista A_1 receptorů, po aplikaci do preoptické oblasti nevyvolává zvýšení spánku, jak již bylo zmíněno dříve (Scammell et al., 2001). Pokud je však aplikován do oblasti BF, posiluje NREM a redukuje REM spánek (Schwierin et al., 1996). Spánková deprivace zvyšuje expresi A_1 receptorů v mozku a posiluje jejich vazebné schopnosti (Elmenhorst et al., 2009). Stejně jako A_{2A} receptory tedy A_1 receptory hrají roli v adenosinové regulaci spánku, zprostředkovávají ji však odlišným mechanismem (Arrigoni et al., 2006). Další výzkumy ukázaly, že infuze agonisty A_1 receptorů do laterální preoptické oblasti indukuje ne spánek, ale bdění pomocí inhibice neuronů podporujících spánek, zatímco agonista A_{2A} receptorů v téže oblasti indukuje spánek (Methippara et al., 2005). Role A_1 receptorů v regulaci spánku se tedy ukazuje být odlišná v různých částech mozku, a i přesto, že se do jisté míry účastní regulace spánku, tyto receptory možná nejsou nezbytné pro spánkovou homeostázi. Homeostatická

odpověď na spánkovou deprivaci u zvířat s chybějícími A₁ receptory totiž není narušena (Stenberg et al., 2003). Mechanismus působení adenosinu na spánek skrze A₁ receptory by mohl být zprostředkován působením na cholinergní a necholinergní neurony BF. Tyto neurony hrají roli v indukci bdění i ve zvyšování zastoupení NREM spánku a delta aktivity po spánkové deprivaci (Satvinder et al., 2008). U potkanů s poškozenými cholinergními neurony BF nedochází v této oblasti ke zvýšení koncentrace adenosinu během spánkové deprivace. I přesto mají tito potkani normální odpověď na spánkovou deprivaci a aplikace agonisty A₁ receptoru, CPA, u nich vyvolává spánek. Akumulace adenosinu v BF ani cholinergní neurony se dle těchto výsledků tedy nezdají být nutné pro normální funkci homeostatického procesu (Blanco-Centurion et al., 2006). V jiném experimentu u potkanů s nefunkčními cholinergními neurony nicméně docházelo k výraznému snížení akumulace adenosinu v BF spánkově deprivovaných zvířat, stejně jako k útlumu homeostatické odpovědi na spánkovou deprivaci (Kalinchuk et al., 2008). A₁ receptory jsou exprimovány také v histaminergních neuronech TMN. Injekce CPA do TMN potkanů tlumí vylučování histaminu a zvyšuje delta aktivitu během NREM spánku. Tato odpověď není pozorována po injekci CPA potkanům s genetickou delecí A₁ receptorů (Oishi et al., 2008).

Zatímco role A_{2A} adenosinových receptorů v regulaci spánkové homeostáze se zdá být poměrně jasná, experimenty týkající se A₁ receptorů doposud přinášely protichůdné výsledky. Je tedy nezbytné funkci těchto receptorů v regulaci spánku dále prozkoumat.

5.2 Geny řídící spánkovou homeostázi

Genetické aspekty homeostatického procesu jsou nejvíce prozkoumány u drozofily jako modelového organismu. Spánková homeostáze drozofily a savců se vzájemně velmi podobá, i u drozofily je spánek po spánkové deprivaci konsolidovanější, hlubší a má vyšší procento pomalých delta vln v NREM epizodách. Jediným výrazným rozdílem jsou odlišnosti mezi spánkem samců a samic drozofil, jelikož samci spí výrazněji delší dobu než samice. Tyto sexuální odlišnosti se u savců nevyskytují. Celková podobnost homeostatického procesu mezi různými druhy však dokládá, že drozofila může sloužit jako velmi dobrý model genetiky spánkové homeostáze (Huber et al., 2004).

Bodová mutace v genu *shaker* (*sh*), který leží na X chromozomu a kóduje napěťově závislé draselné kanály, tlumí běžný spánek. Drozofily s mutací v *shaker* genu spí o 2/3 času méně než ty normální. Odpověď na spánkovou deprivaci u těchto mutantů zůstává, je však méně intenzivní než u normálních drozofil. I přes tuto rapidní změnu v délce spánku nemají *sh* mutantní drozofily problém normálně existovat a nezdají se být znatelně negativně ovlivněny

nedostatkem spánku, z čehož vyplývá, že mají pravděpodobně nižší potřebu spánku než nemutované drozofily (Cirelli et al., 2005).

Protein SLEEPLESS (SSS), který je aktivátorem *sh*, je nezbytný pro spánek jak za normálních podmínek, tak po spánkové deprivaci. *Sss* mutantní drozofily mají ještě více redukovaný spánek než *sh* mutantní jedinci, se ztrátou 80% spánku oproti normálu. Některé *sss* mutantní drozofily dokonce nespí vůbec. Na rozdíl od *sh* mutantů mají výrazně utlumený spánek i po spánkové deprivaci. *Sss* pravděpodobně ovlivňuje homeostatický tlak na spánek zvyšováním aktivity K⁺ kanálů (skrže *sh* nebo nezávisle na něm), čímž zároveň redukuje nervovou vzrušivost (Koh et al., 2008).

Dalším proteinem účastnícím se regulace spánkové homeostáze je Rho-GTPázu-aktivující protein kódovaný genem *crossveinless-c* (*cv-c*) v neuronech dorsálního fan-shaped body (FB). FB je hlavní oblastí podporující spánek u drozofily. Tyto neurony pomocí genu *cv-c*, modulujícího iontové kanály na jejich membránách, převádí spánkový dluh na delší a intenzivnější spánek prostřednictvím lokálního zvýšení své vzrušivosti. Pokud excitabilita neuronů FB dosáhne vrcholu, dochází k nástupu spánku (Donlea et al., 2014).

Drozofilám s knock-outovaným genem pro ubiquitin ligázu E3, *cullin 3* (*cul3*), chybí adekvátní odpověď na spánkovou deprivaci, mají kratší a méně konsolidovaný spánek. Drozofily s mutací v genu *insomniac* (*inc*), což je gen interagující s *cul3*, mají extrémní redukci spánku za normálních podmínek. Fenotyp *inc* mutantních drozofil silně závisí na dopaminu, *inc* a *cul3* geny tedy hrají roli ve vzrušivosti zprostředkované dopaminem. Zároveň funkce *cul3* ve spánkové homeostázi napovídá, že hromadění tlaku na spánek během dlouhého bdění je spojeno s degradací proteinů (Pfeiffenberger a Allada, 2012).

Gen, jehož mutace u lidí způsobuje Syndrom fragilního X, a který je velmi konzervovaný napříč druhy, *fmr1*, se účastní synaptogeneze a synaptické plasticity. Pokud je exprese *fmr1* zvýšena, dochází k redukci spánku, pokud je gen utlumen, spánek je výrazně prodloužený. Ani jeden z těchto fenotypů není ovlivněn světelnými podmínkami a není tedy řízen cirkadiálním systémem. Oba mutantní fenotypy mají utlumenou odpověď na spánkovou deprivaci. U nemutovaných drozofil se hladina proteinu kódovaného *fmr1* zvyšuje během bdění a snižuje během spánku (Bushey et al., 2009).

Nejnověji zkoumaným genem účastnícím se spánkové homeostáze u drozofily je *pumilio* (*pum*), jehož produktem je RNA-vazebný protein regulující translaci mnoha genů. Jednou z jeho primárních funkcí je regulace synaptické plasticity. *Pum* reguluje synaptickou homeostázi tím, že inhibuje translaci napětově řízených sodných kanálů, čímž tlumí excitabilitu neuronů. Kromě toho je nezbytný pro adekvátní odpověď na spánkovou deprivaci. Spánkově

deprivované drozofily s knock-outovaným genem *pum* pomocí RNA interference (*pum*^{RNAi}) mají utlumený spánek. Tento útlum je tím vyšší, čím je delší předešlá deprivace. *Pum*^{RNAi} drozofily zároveň spí až dvakrát delší dobu přes den než normální drozofily, což ukazuje, že *pum* pravděpodobně řídí běžný spánek jiným mechanismem, než kterým reguluje spánek po deprivaci. Jeho role v regulaci spánkové homeostáze by mohla spočívat ve snižování vzrušivosti neuronů podporujících bdělost během spánkové deprivace a v následném snižování vzrušivosti neuronů podporujících spánek, čímž by docházelo nejprve k nárůstu a poté ke snížení tlaku na spánek (Jesús-Olmo et al., 2020).

I přesto, že u savců zatím nebylo provedeno mnoho výzkumů v tomto ohledu, existuje gen, *homer1a*, jehož exprese v myším mozku se liší v závislosti na spánku. Transkripce tohoto genu je závislá na synaptické aktivitě neuronů. Protein kódovaný *homer1a* se podílí na synaptické plasticitě, tlumí glutamát zprostředkované uvolňování vápníku vedoucí k hyperaktivitě neuronů a má i neuroprotektivní funkci. Spánková deprivace trávající 6 hodin vede k aktivaci transkripce *homer1a*, u nedeprivovaných myší dochází ke snižování hladiny mRNA tohoto genu během spánku. Kromě *homer1a* se zdá, že spánková deprivace ovlivňuje v menší míře i další geny účastníci se synaptické plasticity a stresových reakcí, ty však mohou být ovlivněny pouze stresem vznikajícím z nedostatku spánku a ne přímo homeostatickou odpovědí (Maret et al., 2007).

Nedávno byla prozkoumána role genu pro aktivitou regulovaný protein asociovaný s cytoskeletem (*arc*) u myší. Tento gen je důležitý pro zachování synaptické homeostáze a jeho exprese, především v kortexu a hipokampu, je indukována dlouhým bděním a snižuje se během spánku. Myši s deletovaným genem *arc* tráví více času v REM spánku a mají utlumenou odpověď na spánkovou deprivaci (Suzuki et al., 2020).

Většina genů, které se účastní regulace spánkové homeostáze, primárně řídí snižování synaptické plasticity během spánku, což podporuje teorii o souvislosti mezi těmito procesy. Uvedený výčet genů regulujících spánkovou homeostázi u drozofily jistě není kompletní a další výzkumy v této oblasti jsou nezbytné. Stejně tak je potřeba ověřit propojení regulace spánkové homeostáze s dalšími procesy, jako je například degradace proteinů. Rovněž zbývá identifikovat geny, které za touto regulací stojí u savců.

5.3 Poruchy ve spánkové homeostázi

Narušený homeostatický proces je spojen s poruchami depresivního spektra, což je patrné z EEG záznamů lidí trpících depresí. Tito pacienti mají snížené hodnoty pomalé delta aktivity, tráví více času v lehčích fázích NREM spánku a v REM spánku, mají fragmentovanější spánek

a pomaleji usínají. Propojení spánkové homeostáze s depresí podporuje teorii synaptické homeostáze a funkci genů regulujících synaptickou plasticitu v homeostatickém procesu, jelikož u lidí trpících depresí je nervová plasticita narušena (Goldschmied a Gehrman, 2019*). Podle jedné teorie je právě nízká synaptická síla, vedoucí k pomalejšímu zvyšování synaptické plasticity v průběhu dne, příčinou deprese. Antidepresivní účinky spánkové deprivace by tak mohly být vysvětleny tím, že delší čas strávený vzhůru nechává prostor pro akumulaci potřebné spánkové plasticity. Pozitivní účinky jsou však zvráceny následným spánkem, který pravděpodobně snižuje hodnoty synaptické plasticity na původní úroveň (Wolf et al., 2016). Ke zlepšení symptomů deprese také dochází, pokud jsou během spánku selektivně tlumeny pomalé vlny a toto zlepšení je tím větší, čím více jsou delta vlny utlumeny. Vysoký výskyt pomalých vln během spánku tedy může být jedním z faktorů přispívajících k rozvoji deprese (Cheng et al., 2015).

6 Interakce spánkové homeostáze a cirkadiánní kontroly spánku

První nástin vzájemné interakce dvou regulačních procesů byl představen už v původním modelu, vycházel z grafického znázornění obou procesů a říkal, že potřeba spánku závisí na rozdílu mezi hodnotami procesů S a C. Pokud podle tohoto modelu proces S dosáhne vrcholu křivky, což znamená, že rozdíl mezi ním a cirkadiánním procesem je největší, je potřeba spánku nejvyšší, když naopak dosáhne nejnižšího bodu a jeho hodnota je v tu chvíli stejná jako hodnota cirkadiánního procesu, dochází k probuzení (Borbély, 1982, Daan et al., 1984; Obr. 6). Od doby Borbélyho původního modelu však přibyly důkazy pro mnohem komplexnější interakci mezi procesy, včetně výzkumů na úrovni molekulárních mechanismů řídících homeostatický proces a propojujících ho s cirkadiánním oscilátorem, které budou popsány dále.

6.1 Vliv spánkové deprivace na SCN

Homeostatický proces se zvyšuje v průběhu spánkové deprivace, což se odráží na EEG záznamu, na němž v průběhu bdění stoupá theta aktivita a během následného NREM spánku je zřetelně zvýšena pomalá delta aktivita (Vyazovskiy a Tobler, 2005). Spánková deprivace však nepřímou skrze homeostatický proces ovlivňuje i cirkadiánní řízení spánku, což je patrné z faktu, že u spánkově deprivovaných hlodavců (Van Diepen et al., 2014) i lidí (Burgess, 2010) je utlumen fázový posun v reakci na světelný puls v ranních hodinách. Útlum fázového posunu je pravděpodobně zprostředkován adenosinem, který působí na A_1 receptory na synapsích neuronů SCN a negativně reguluje uvolňování glutamátu z RHT do SCN. Tím adenosin blokuje přenos světelného signálu (Sigworth a Rea, 2003). Tato teorie je podpořena tím, že antagonist

adenosinu, kofein, tlumí účinky spánkové deprivace a umocňuje fázový posun SCN v reakci na světlo. Douhodobé podávání kofeinu myším žijícím ve stálé tmě i na stálém světle prodlužuje cirkadiánní periodu (Van Diepen et al., 2014). I u lidí byl pozorován přibližně poloviční fázový posun vlivem trvalého podávání kofeinu tři hodiny před začátkem spánku, než k jakému dochází vlivem jasného světla ve večerních hodinách (Burke et al., 2015). Kromě vlivu na fázový posun tlumí spánková deprivace nervovou aktivitu SCN a při selektivní spánkové deprivaci, kdy jsou redukovány pouze pomalé vlny, je aktivita SCN naopak zvýšena, jak již bylo popsáno dříve (Deboer et al., 2007; kapitola 4.4).

6.2 Role hodinových genů ve spánkové homeostázi

Výše uvedené výsledky dokazují vliv homeostatického procesu na endogenní cirkadiánní hodiny. Teorie, že cirkadiánní proces naopak ovlivňuje ten homeostatický, je podpořena zvířecími modely, u kterých mutace a delece hodinových genů narušuje spánkovou homeostázi (Franken, 2013*). Myši s deletovaným *cry1* i *cry2* genem (*cry1,2^{-/-}*) nemají funkční biologické hodiny a při životě ve stálé tmě nevykazují cirkadiánní rytmus. Zároveň u těchto zvířat dochází ke zvýšené akumulaci spánkového dluhu během bdění, což vede k vyššímu výskytu pomalých delta vln v průběhu NREM spánku a k delším a souvislejším NREM fázím spánku než mají normální myši. Spánek u *cry1,2^{-/-}* myši tedy odpovídá běžnému spánku po spánkové deprivaci. Tento fenotyp je pravděpodobně způsoben zvýšenou expresí *per1* a *per2* mRNA v kortexu v důsledku chybějící interakce s CRY1 a CRY2 (Wisor et al., 2002).

Myši s delecí *bm11* genu také vykazují endogenní desynchronizaci cirkadiánního rytmu i neobvykle vysoké množství NREM i REM spánku a trvale zvýšenou delta aktivitu. Během spánkové deprivace mají *bm11^{-/-}* myši problém zůstat vzhůru, což ukazuje na fakt, že i u nich je zvýšen homeostatický tlak na spánek. Spánkově deprivované *bm11^{-/-}* myši mají sníženou hodnotu pomalých vln v průběhu následného spánku oproti normálním myším, pravděpodobně v důsledku toho, že jsou zvyklé na trvale zvýšené hodnoty homeostatického tlaku (Laposky et al., 2005).

I myši s mutací genu *clock* mají desynchronizovaný cirkadiánní rytmus, homozygotní mutantní vykazují úplnou ztrátu rytmicity v konstantní tmě. Kromě toho spí heterozygotní *clock* mutantní myši v průměru o 1 hodinu méně než normální myši a homozygotní o 2 hodiny méně. To se projevuje kratšími epizodami NREM spánku (Naylor et al., 2000). Nervový Per-Arnt-Sim-type signal-sensor protein-domain protein 2 (NPAS2), který je paralogem CLOCK, heterodimerizuje s BMAL1 v oblastech mozku mimo SCN a řídí tak expresi *per* a *cry* v kortexu (Reick et al., 2001). I u myši s knockoutovaným *npas2* byla zjištěna role tohoto genu ve

spánkové homeostázi. *Npas2*^{-/-} myši spí méně v době, kdy normální myši vykazují vysoce konsolidovaný spánek, a také mají pomalejší nárůst homeostatického tlaku na spánek. Tento fenotyp je tedy přesně opačný než u myši s delecí genů *cry1* a *cry2*, což ukazuje na spojitost mezi expresí *per1* a *per2* v kortexu a zvýšenou potřebou spánku. Expresí těchto genů totiž u *npas2*^{-/-} myši chybí (Franken et al., 2006). Také u myši s delecí genu pro REV-ERB α , *nr1d1* narůstá homeostatický tlak na spánek pomaleji, což se odráží na nižších hodnotách theta aktivity během bdění a delta aktivity v průběhu spánku. V kortexu normálních myši je exprese genu *nr1d1* snížena po spánkové deprivaci (Mang et al., 2016).

U myši s mutovanými *per1* a *per2* geny nebyly z hlediska spánkové homeostáze pozorovány signifikantní odchylky od normálu (Shiromani et al., 2004). Nicméně, v experimentech, ve kterých byly normální myši spánkově deprivovány, bylo zjištěno, že exprese *per2* v předním mozku se zvyšuje se stoupající potřebou spánku, což podporují i výsledky pokusů s *cry1,2*^{-/-} a *npas2*^{-/-} myšmi. Zároveň se po spánkové deprivaci snižuje exprese genu *dbp*, který aktivuje transkripci *per2* a zvyšuje exprese genu *nfil3*, který jeho transkripci tlumí. Míra zvýšení exprese *per2* po spánkové deprivaci se liší s ohledem na fázi dne, což ukazuje na *per2* zprostředkovanou interakci mezi cirkadiálním a homeostatickým procesem (Curie et al., 2013).

U lidí byla v tomto ohledu dosud věnována největší pozornost přirozeně se vyskytujícímu polymorfismu v *per3* genu. *Per3* se vyskytuje ve dvou variantách, se čtyřmi nebo pěti tandemovými repeticemi, přičemž 50% populace je homozygotní pro variantu se čtyřmi repeticemi a 10% populace pro variantu s pěti (Nadkarni et al., 2005). Tento polymorfismus ovlivňuje jak cirkadiální (kratší varianta je spojena s večerním a delší s ranním chronotypem), tak homeostatickou regulaci spánku. Lidé s delší variantou *per3* mají vyšší pomalovlnnou aktivitu a delší epizody spánku pomalých vln (Viola et al., 2012).

Tyto výsledky jsou nezvratným důkazem pro spojení hodinových genů se spánkovou homeostází, zvláštní důležitost je přitom připisována *period* genům díky jejich zvýšené akumulaci v předním mozku u spánkově deprivovaných myši. Nicméně jsou potřebné další výzkumy zabývající se například expresí hodinových genů v mozku spánkově deprivovaných zvířat v různých fázích dne. Další výzkumy jsou potřebné i ve vztahu hodinových genů a spánkové homeostáze u lidí.

7 Závěr

Spánková homeostáze je komplexní proces zahrnující mnoho genů, jejichž velká část pravděpodobně stále nebyla objevena. Geny účastníci se spánkové homeostáze u drozofily i u myši jsou vesměs geny primárně regulující synaptickou plasticitu. Tento fakt představuje silnou podporu pro teorii synaptické homeostáze, podle které homeostatický proces regulace spánku hraje roli ve snižování synaptické síly v průběhu noci (Tononi a Cirelli, 2003). Dalším důkazem pro tuto teorii je i narušení spánkové homeostáze u lidí trpících depresí, jelikož je tato nemoc spojena s poruchou synaptické plasticity.

Ve zprostředkování regulace spánku skrze homeostatický proces hraje pravděpodobně nejdůležitější roli adenosin, jehož koncentrace v předním mozku se zvyšuje úměrně s délkou bdění. Funkce adenosinu je zprostředkována skrze působení na A_{2A} receptory, jejichž antagonistou je světově nejrozšířenější stimulant, kofein. Také adenosinové A_1 receptory mají úlohu v regulaci spánku, ta však dosud není zcela jasná a tyto receptory možná nejsou nezbytné pro spánkovou homeostázi. Prostaglandin D_2 se účastní homeostatické regulace spánku prostřednictvím zvyšování koncentrace adenosinu v předním mozku.

Spánkové homeostáze je propojena s cirkadiálním procesem na molekulární úrovni. Zvířata s deletovanými hodinovými geny vykazují odchylky od normální homeostatické odpovědi na spánkovou deprivaci. Nejdůležitějšími hodinovými geny pro spánkovou homeostázi se zdají být *period1* a *period2*, jejichž exprese se v předním mozku myši zvyšuje po spánkové deprivaci, u lidí je velká pozornost věnována polymorfismu v genu *period3*.

Je nezbytné zaměřit další výzkum na charakterizaci genů řídících spánkovou homeostázi u savců a na její případné propojení s teorií synaptické homeostáze nebo s dalšími procesy. V této souvislosti jsou také potřeba další výzkumy týkající se spánkové homeostáze u pacientů s depresí, jejichž výsledky by mohly vést k potenciální léčbě depresí skrze regulaci spánku.

8 Seznam literary

* - reviews

- Abrahamson, E. E., Leak, R. K., Moore, R.** (2001). *The Suprachiasmatic Nucleus Projects to Posterior Hypothalamic Arousal Systems*. *Neuroreport*, 12(2). 435-440.
- Aeschbach, D., Postolache, T., Sher, L., Matthews, J., Jackson, M., Wehr, T.** (2001). *Evidence from the Waking Electroencephalogram that Short Sleepers Live under Higher Homeostatic Sleep Pressure than Long Sleepers*. *Neuroscience*, 102(3). 493-502.
- Albus, H., Vansteensel, M. J., Michel, S., Block, G. D., Meijer, J. H.** (2005). *A GABAergic Mechanism Is Necessary for Coupling Dissociable Ventral and Dorsal Regional Oscillators within the Circadian Clock*. *Current Biology*, 15(10). 886-893.
- Anders, T.F.** (1978). *Home-Recorded Sleep in 2- and 9-Month-Old Infants*. *Journal of the American Academy of Child Psychiatry*, 17(3). 421-432.
- Arrigoni, E., Chamberlin, N. L., Saper, C. B., McCarley, R. W.** (2006). *Adenosine Inhibits Basal Forebrain Cholinergic and Noncholinergic Neurons In Vitro*. *Neuroscience*, 140(2). 403-413.
- Aserinsky, E., Kleitman N.** (1955). *Two Types of Ocular Motility Occurring in Sleep*. *Journal of Applied Physiology*. 1-10.
- Ballarín, M., Fredholm, B. B., Ambrosio, S., Mahy, N.** (1991). *Extracellular Levels of Adenosine and Its Metabolites in the Striatum of Awake Rats: Inhibition of Uptake and Metabolism*. *Acta Physiologica Scandinavica*, 142(1). 97-103.
- Berra, B, Rizzo, A. M.** (2009). *Melatonin: Circadian Rhythm Regulator, Chronobiotic, Antioxidant and Beyond*. *Clinics in Dermatology*, 27(2). 202-209.*
- Biber, K., Klotz, K.-N., Berger, M., Gebicke-Härter, van Calker, D.** (1997). *Adenosine A₁ Receptor-Mediated Activation of Phospholipase C in Cultured Astrocytes Depends on the Level of Receptor Expression*. *Journal of Neuroscience*, 17(13). 4956-4964.
- Blanco-Centurion, C., Xu, M., Murillo-Rodriguez, E., Gerashchenko, D., Shiromani, A. M., Salin-Pascual, R. J., Hof, P. R., Shiromani, P. J.** (2006). *Adenosine and Sleep Homeostasis in the Basal Forebrain*. *Journal of Neuroscience*, 26(31). 8092-8100.
- Bojkowski, C., Aldhous, M., English, J., Franey, C., Poulton, A., Skene, D., Arendt, J.** (1987). *Suppression of Nocturnal Plasma Melatonin and 6-Sulphatoxymelatonin by Bright and Dim Light in Man*. *Hormone and Metabolic Research*, 19(09). 437-440.
- Borbély, A. A.** (1982). *Two-Process Model of Sleep Regulation*. *Encyclopedia of Neuroscience*. 4146-4146.
- Březinová, V.** (1974). *Sleep Cycle Content and Sleep Cycle Duration*. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 36. 275-282.
- Bugge, A., Feng, D., Everett, L. J., Briggs, E. R., Mullican, S. E., Wang, F., Jager, J., Lazar, M. A.** (2012). *Rev-erba and Rev-erbb β Coordinately Protect the Circadian Clock and Normal Metabolic Function*. *Genes and Development*, 26(7). 657-667.
- Burgess, H. J.** (2010). *Partial Sleep Deprivation Reduces Phase Advances to Light in Humans*. *Journal of Biological Rhythms*, 25(6). 460-468.

- Burgess, H. J., Revell, V. L., Thomas, A. M., Charmane, I. E.** (2010). *Human Phase Response Curves to Three Days of Daily Melatonin: 0.5 mg Versus 3.0 mg*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 95(7). 3325-3331.
- Burke, T. M., Makrwald, R. R., McHill, A. W., Chinoy, E. D., Snider, J. A., Bessman, S. C., Jung, C. M., O'Neill, J. S., Wright, K. P.** (2015). *Effects of Caffeine on the Human Circadian Clock in Vivo and in Vitro*. *Science Translational Medicine*, 7(305). 8-9.
- Bushey, D., Tononi, G., Cirelli, C.** (2009). *The Drosophila Fragile X Mental Retardation Gene Regulates Sleep Need*. *Journal of Neuroscience*, 29(7). 1948-1961.
- Cajochen, C., Foy, R., Dijk, D.-J.** (1999). *Frontal Predominance of a Relative Increase in Sleep Delta and Theta EEG Activity after Sleep Loss in Humans*. *Sleep Research Online*, 2(3). 65-69.
- Carruthers, A. M., Sellers, L. A., Jenkins, D. W., Jarvie, E. M., Feniuk, W., Humphrey, P. P. A.** (2001). *Adenosine A1 Receptor-Mediated Inhibition of Protein Kinase A-Induces Calcitonin Gene-Related Peptide Release from Rat Trigeminal Neurons*. *Molecular Pharmacology*, 59(6). 1533-1541.
- Carskadon, M. A., Dement, W. C.** (2011). *Normal Human Sleep : An Overview*. Principles and practice of sleep medicine. 16–26.*
- Cirelli, C., Bushey, D., Hill, S., Huber, R., Kreber, R., Ganetzky, B., Tononi, G.** (2005). *Reduced Sleep in Drosophila Shaker Mutants*. *Nature*, 434. 1087-1092.
- Cox, K. H., Takahashi, J. S.** (2019). *Circadian Clock Genes and the Transcriptional Architecture of the Clock Mechanism*. *Journal in Molecular Endocrinology*, 63(4). 93-102.*
- Crawford, C. R., Patel, D. H., Naeve, C., Belt, J. A.** (1998). *Cloning of the Human Equilibrative, Nitrobenzylmercaptapurine Riboside (NBMPR)-Insensitive Nucleoside Transporter ei by Functional Expression in a Transport-Deficient Cell Line*. *Journal of Biological Chemistry*, 273(9). 5288-5293.
- Curie, T., Mongrain, V., Dorsaz, S., Mang, G., Emmenegger, Y., Franken, P.** (2013). *Homeostatic and Circadian Contribution to EEG and Molecular State Variables of Sleep Regulation*. *Sleep*, 36(3). 311-323.
- Daan, S., Beersma, D. G., Borbély, A. A.** (1984). *Timing of Human Sleep: Recovery Process Gated by a Circadian Pacemaker*. *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 246(2). 161-183.
- Deboer, T., Vansteensel, M. J., Détári, L., Meijer, J. H.** (2003). *Sleep States Alter Activity of Suprachiasmatic Nucleus Neurons*. *Nature Neuroscience*, 6(10). 1086-1090.
- Deboer, T., Détári, L., Meijer, J. H.** (2007). *Long Term Effects of Sleep Deprivation on the Mammalian Circadian Pacemaker*. *Sleep*, 30(3). 257-262.
- Delaney, S. M., Geiger, J. D.** (1998). *Levels of Endogenous Adenosine in Rat Striatum. II. Regulation of Basal and N-Methyl-D-Aspartate-Induced Levels by Inhibitors of Adenosine Transport and Metabolism*. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 258(2). 568-572.
- Dement, W., Kleitman, N.** (1957). *Cyclic Variations in EEG During Sleep and Their Relation to Eye Movements, Body Motility, and Dreaming*. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 9(4). 673–690.
- Deurveilher, S., Burns, J., Semba, K.** (2002). *Indirect Projections from the Suprachiasmatic Nucleus to the Ventrolateral Preoptic Nucleus: a Dual Tract-Tracing Study in Rat*. *European Journal of Neuroscience*, 16(7). 1195-1213.

- Deurveilher, S., Semba, K.** (2003). *Indirect Projections from the Suprachiasmatic Nucleus to the Median Preoptic Nucleus in Rat*. Brain Research, 987(1). 100-106.
- Deurveilher, S., Semba, K.** (2005). *Indirect Projections from the Suprachiasmatic Nucleus to Major Arousal-Promoting Cell Groups in Rat: Implications for the Circadian Control of Behavioural State*. Neuroscience, 130(1). 165-183.
- Dixon, A. K., Gubitz, A. K., Sirinathsinghji, D. J. S., Richardson, P. J., Freeman, T. C.** (1996). *Tissue Distribution of Adenosine Receptor mRNAs in the Rat*. British Journal of Pharmacology, 118(6). 1461-1468.
- Donlea, J. M., Pimentel, D., Miesenböck, G.** (2014). *Neuronal Machinery of Sleep Homeostasis in Drosophila*. Neuron, 81(4). 860-872.
- Dunwiddie, T. V., Diao, L., Proctor, W. R.** (1997). *Adenine Nucleotides Undergo Rapid, Quantitative Conversion to Adenosine in the Extracellular Space in Rat Hippocampus*. The Journal of Neuroscience, 17(20). 7673-7682.
- Ebrahimi, F., Mikaeili, M., Estrada, E., Nazeran, H.** (2008). *Automatic Sleep Stage Classification Based on EEG Signals by Using Neural Networks and Wavelet Packet Coefficients*. 30th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. 1151-1154.
- Eide, E. J., Woolf, M. F., Kang, H., Woolf, P., Hurst, W., Camacho, F., Vielhaber, E., L., Giovanni, A., Virshup, D. M.** (2005). *Control of Mammalian Circadian Rhythm by CK1-Regulated Proteasome-Mediated PER2 Degradation*. Molecular and Cellular Biology, 25(7). 2795-2807.
- Elmenhorst, D., Basheer, R., McCarley, R. W., Bauer, A.** (2009). *Sleep Deprivation Increases A₁ Adenosine Receptor Density in the Rat Brain*. Brain Research, 1258. 53-58.
- Evans, J. A., Leise, T. L., Castanon-Cervantes, O., Davidson, A. J.** (2013). *Dynamic Interactions Mediated by Nonredundant Signaling Mechanisms Couple Circadian Clock Neurons*. Neuron, 80(4). 973-983.
- Farajnia, S., van Westering, T. L. E., Meijer, J. H., Michel, S.** (2014). *Seasonal Induction of GABAergic Excitation in the Central Mammalian Clock*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 111(26). 9627-9632.
- Fenton, R. A., Shea, L. G., Doddi, C., Dobson, J. G.** (2010). *Myocardial Adenosine A₁-Receptor-Mediated Adenoprotection Involves Phospholipase C, PKC-ε, and p38, but Not HSP27*. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 298(6). 1671-1678.
- Finelli, L., Baumann, H., Borbély, A., Achermann, P.** (2000). *Dual Electroencephalogram Markers of Human Sleep Homeostasis: Correlation between Theta Activity in Waking and Slow-wave Activity in Sleep*. Neuroscience, 101(3). 523-529.
- Floyd, J. A., Janisse, J. J., Jenuwine, E. S., Ager, J. W.** (2007). *Changes in REM-Sleep Percentage Over the Adult Lifespan*. Sleep, 30(7). 829-836.
- Franken, P.** (2013). *A Role for Clock Genes in Sleep Homeostasis*. Current Opinion in Neurobiology, 23(5). 864-872.*
- Franken, O., Dudley, C. A., Estill, S. J., Barakat, M., Thomason, R., O'Hara, B. F., McKnight, S. L.** (2006). *NPAS2 As a Transcriptional Regulator of Non-rapid Eye Movement Sleep: Genotype and Sex Interactions*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 103(18). 7118-7123.

- Fredholm, B. B., IJzerman, A. P., Jacobson, K. A., Linden, J., Muller, C. E.** (2011). *International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXXI. Nomenclature and Classification of Adenosine Receptors – An Update*. *Pharmacological Reviews*, 63(1). 1-34.*
- Fuller, P., Sherman, D., Pedersen, N. P., Saper, C. B., Lu, J.** (2011). *Reassessment of the Structural Basis of the Ascending Arousal System*. *The Journal of Comparative Neurology*, 519(5). 933-956.
- Ganguly, S., Gastel, J. A., Weller, J. L., Schwartz, C., Jaffe, H., Namboodiri, M. A. A., Coon, S. L., Hickman, A. B., Rollag, M., Obšil, T., Beauverger, P., Ferry, G., Boutin, J. A., Klein, D. C.** (2001). *Role of a Pineal cAMP-operated Arylalkylamine N-acetyltransferase/14-3-3 Binding Switch in Melatonin Synthesis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(14). 8083-8088.
- Gastel, J. A.** (1998). *Melatonin Production: Proteasomal Proteolysis in Serotonin N-Acetyltransferase Regulation*. *Science*, 279(5355). 1358-1360.
- Gekakis, N., Staknis, D., Nguyen, H. B., Davis, F. C., Wilsbacher, L. D., King, D. P., Takahashi, J. S., Weitz, C. J.** (1998). *Role of the CLOCK Protein in the Mammalian Circadian Mechanism*. *Science*, 280(5369). 1564-1569.
- Globus, G. G.** (1970). *Quantification of the Rem Sleep Cycle As a Rhythm*. *Psychophysiology*, 7(2). 248–253.
- Goldschmied, J. R., Gehrman, P.** (2019). *An Integrated Model of Slow-Wave Activity and Neuroplasticity Impairments in Major Depressive Disorder*. *Current Psychiatry Reports*, 21(5).*
- Gong, H., McGinty, D., Guzman-Marin, R., Chew, K.-T., Stewart, D., Szymusiak, R.** (2004). *Activation of c-fos in GABAergic Neurons in the Preoptic Area During Sleep and in Response to Sleep Deprivation*. *The Journal of Physiology*, 556(3). 935-946.
- Griffiths, M., Beaumont, N., Yao, S. Y. M., Sundaram, M., Boumah, C. E., Davies, A., Kwong, F. Y. P., Coe, I., Cass, C. E., Young, J. D., Baldwin, S. A.** (1997). *Cloning of a Human Nucleoside Transporter Implicated in the Cellular Uptake of Adenosine and Chemotherapeutic Drugs*. *Nature Medicine*, 3(1). 89-93.
- Gubitza, A. K., Widdowson, L., Kurokawa, M., Kirkpatrick, K. A., Richardson, P. J.** (2002). *Dual Signalling by the Adenosine A2a Receptor Involves Activation of Both N- and P-Type Calcium Channels by Different G Proteins and Protein Kinases in the Same Striatal Nerve Terminals*. *Journal of Neurochemistry*, 67(1). 374-381.
- Hallanger, A. E., Levey, A. I., Lee, H. J., Rye, D. B., Wainer, B. H.** (1987). *The Origins of Cholinergic and Other Subcortical Afferents to the Thalamus in the Rat*. *The Journal of Comparative Neurology*, 262(1). 105-124.
- Hannibal, J., Moller, M., Ottersen, O. P., Fahrenkrug, J.** (2000). *PACAP and Glutamate are Co-Stored in the Retinohypothalamic Tract*. *The Journal of Comparative Neurology*, 418. 147-155.
- Hannibal, J., Hindersson, P., Knudsen, S. M., Georg, B., Fahrenkrug, J.** (2002). *The Photopigment Melanopsin is Exclusively Present in Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide-Containing Retinal Ganglion Cells of the Retinohypothalamic Tract*. *The Journal of Neuroscience*, 22(1). 1-7.
- Hartmann, E.** (1968). *The 90-Minute Sleep-Dream Cycle*. *Archives of General Psychiatry*, 18(3). 280-286.
- 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(5557). 1065-1070.
- Hirai, H., Tanaka, K., Yoshie, O., Ogawa, K., Kenmotsu, K., Takamori, Y., Ichimasa, M., Sugamura, K., Nakamura, M., Takano, S., Nagata, K.** (2001). *Prostaglandin D2 Selectively Induces Chemotaxis in T Helper Type 2 Cells, Eosinophils, and Basophils via Seven-Transmembrane Receptor Crth2*. *Journal of Experimental Medicine*, 193(2). 255-262.

- Hirata, M., Kakizuka, A., Aizawa, M., Ushikubi, F., Narumiya, S.** (1994). *Molecular Characterization of a Mouse Prostaglandin D Receptor and Functional Expression of the Cloned Gene*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 91(23). 11192-11196.
- Hong, Z.-Y., Huang, Z.-L., Qu, W.-M., Eguchi, N., Urade, Y., Hayaishi, O.** (2005). *An Adenosine A_{2A} Receptor Agonist Induces Sleep by Increasing GABA Release in the Tubero-mammillary Nucleus to Inhibit Histaminergic Systems in Rats*. Journal of Neurochemistry, 92(6). 1542-1549.
- Houben, T., Deboer, T., van Oosterhout, F., Meijer, J. H.** (2009). *Correlation with Behavioral Activity and Rest Implies Circadian Regulation by SCN Neuronal Activity Levels*. Journal of Biological Rhythms, 24(6). 477-487.
- Huang, Z.-L., Qu, W.-M., Eguchi, N., Chen, J.-F., Schwarzschild, M. A., Fredholm, B. B., Urade, Y., Hayaishi, O.** (2005). *Adenosine A_{2A}, but Not A₁ Receptors Mediate the Arousal Effect of Caffeine*. Nature Neuroscience, 8. 858-859.
- Huang, Z.-L., Urade, Y., Hayaishi, O.** (2011). *The Role of Adenosine in the Regulation of Sleep*. Current Topics in Medicinal Chemistry, 11(8). 1047-1057.*
- Huber, R., Hill, S. L., Holladay, C., Biesiadecki, M., Tononi, G., Cirelli, C.** (2004). *Sleep Homeostasis in Drosophila Melanogaster*. Sleep, 27(4). 628-639.
- Hunt, A. E., Al-Ghoul, W. M., Gillette, M. U., Dubocovich, M. L.** (2001). *Activation of MT₂ Melatonin Receptors in Rat Suprachiasmatic Nucleus Phase Advances the Circadian Clock*. American Journal of Physiology - Cell Physiology, 280(1). 110-118.
- Chemelli, R. M., Willie, J. T., Sinton, C. M., Elmquist, J. K., Scammell, T., Lee, C., Richardson, J. A., Williams, S. C., Xiong, Y., Kisanuki, Y., Fitch, T. E., Nakazato, M., Hammer, R. E., Saper, C. B., Yanagisawa, M.** (1999). *Narcolepsy in Orexin Knockout Mice*. Cell, 98(4). 437-451.
- Chen, J.-F., Lee, C., Chern, Y.** (2014). *Adenosine Receptor Neurobiology: Overview*. Adenosine Receptors in Neurology and Psychiatry. 1-49.*
- Cheng, P., Goldschmied, J., Casement, M., Kim, H. S., Hoffmann, R., Armitage, R., Deldin, P.** (2015). *Reduction in Delta Activity Predicted Improved Negative Affect in Major Depressive Disorder*. Psychiatry Research, 228(3). 715-718.
- Chokroverty, S.** (1980). *Phasic Tongue Movements in Human Rapid-Eye-Movement Sleep*. Neurology, 30(6). 665-668.
- Chokroverty, S.** (2017). *Overview of Normal Sleep*. Sleep Disorders Medicine. 5-27.*
- Chou, T. C., Bjorkum, A. A., Gaus, S. E., Lu, J., Scammell, T. E., Saper, C. B.** (2002). *Afferents to the Ventrolateral Preoptic Nucleus*. The Journal of Neuroscience, 22(3). 977-990.
- Chou, T. C., Scammell, T. E., Gooley, J. J., Gaus, S. E., Saper, C. B., Lu, J.** (2003). *Critical Role of Dorsomedial Hypothalamic Nucleus in a Wide Range of Behavioral Circadian Rhythms*. The Journal of Neuroscience, 23(33). 10691-10702.
- Jajoo, S., Mukherjea, D., Kumar, S., Steth, S., Kaur, T., Rybak, L. P., Rumkumar, V.** (2010). *Role of β -arrestin1/ERK MAP Kinase Pathway in Regulating Adenosine A₁ Receptor Desensitization and Recovery*. American Journal of Physiology-Cell Physiology, 298(1). 59-65.
- Jesús-Olmo, L. A., Rodríguez, N., Francia, M., Alemán-Ríos, J., Pacheco-Agosto, C. J., Ortega-Torres, J., Nieves, R., Fuenzalida-Uribe, N., Ghezzi, A., Agosto, J. L.** (2020). *Pumilio Regulates Sleep Homeostasis in Response to Chronic Sleep Deprivation in Drosophila Melanogaster*. Frontiers in Neuroscience, 14(319). 1-15.

- Jeong, H.-J., Jang, I.-S., Nabekura, J., Akaike, N.** (2003). *Adenosine A1 Receptor-Mediated Presynaptic Inhibition of GABAergic Transmission in Immature Rat Hippocampal CA1 Neurons*. *Journal of Neurophysiology*, 89(3). 1214-1222.
- Jones, B. E.** (2003). *Arousal Systems*. *Frontiers in Bioscience*, 8(6). 438-451.*
- Jordan, W., Tumani, H., Cohrs, S., Eggert, S., Rodenbeck, A., Brunner, E., Rütger, E., Hajak, G.** (2004). *Prostaglandin D Synthase (β -trace) in Healthy Human Sleep*. *Sleep*, 27(5). 867-874.
- Kalinchuk, A. V., McCarley, R. W., Stenberg, D., Porkka-Heiskanen, T., Basheer, R.** (2008). *The Role of Cholinergic Basal Forebrain Neurons in Adenosine-Mediated Homeostatic Control of Sleep: Lessons from 192 IgG-saporin Lesions*. *Neuroscience*, 157(1). 138-253.
- Klein, D. C., Weller, J. L.** (1970). *Indole Metabolism in the Pineal Gland: A Circadian Rhythm in N-Acetyltransferase*. *American Association for the Advancement of Science*, 169(3950). 1093-1095.
- Koh, K., Joiner, W. J., Wu, M. N., Yue, Z., Smith, C. J., Sehgal, A.** (2008). *Identification of SLEEPLESS, a Sleep-Promoting Factor*. *Science*, 321(5887). 372-376.
- Konopka, R. J., Benzer, S.** (1971). *Clock Mutants of Drosophila Melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 68(9). 2112-2116.
- Korf, H.-W., von Gall, C.** (2016). *Circadian Physiology. Textbook of Neuroscience in the 21st Century: Basic and Clinical*. New York: Springer. 2203-2239.*
- Lai, H.-L., Yang, T.-H., Messing, R. O., Ching, Y.-H., Lin, S.-C., Chern, Y.** (1997). *Protein Kinase C Inhibits Adenylyl Cyclase Type VI Activity during Desensitization of the A2a-Adenosine Receptor-mediated cAMP Response*. *Journal of Biological Chemistry*, 272(8). 4970-4977.
- Landolt, H.-P., Borbély, A. A.** (2001). *Age-Dependent Changes in Sleep EEG Topography*. *Clinical Neurophysiology*, 112(2). 369-377.
- Landolt, H.-P., Rétey, J. V., Tönz, K., Gottselig, J. M., Khatami, R., Buckelmüller, I., Achermann, P.** (2004). *Caffeine Attenuates Waking and Sleep Electroencephalographic Markers of Sleep Homeostasis in Humans*. *Neuropharmacology*, 29. 1933-1939.
- Laposky, A., Easton, A., Dugovic, C., Walisser, J., Bradfield, C., Turek, F.** (2005). *Deletion of the Mammalian Circadian Clock Gene BMAL1/Mop3 Alters Baseline Sleep Architecture and the Response to Sleep Deprivation*. *Sleep*, 28(4). 395-410.
- Lazar, A. S., Lazar, Z. I., Dijk, D.-J.** (2015). *Circadian Regulation of Slow Waves in Human Sleep: Topographical Aspects*. *NeuroImage*, 116. 123-134.
- Lazarus, M., Shen, H.-Y., Cherasse, Y., Qu, W.-M., Huang, Z.-L., Bass, C. E., Winsky-Sommerer, R., Semba, K., Fredholm, B. B., Boison, D., Hayaishi, O., Urade, Y., Chen, J.-F.** (2011). *Arousal Effect of Caffeine Depends on Adenosine A_{2A} Receptors in the Shell of the Nucleus Accumbens*. *Journal of Neuroscience*, 31(27). 10067-10075.
- Lee, C., Etcheagaray, J.-P., Cagampang, F. R. A., Loudon, A. S. I., Reppert, S. M.** (2001). *Posttranslational Mechanisms Regulate the Mammalian Circadian Clock*. *Cell*, 107(7). 855-867.
- Liu, C., Weaver, D. R., Jin, X., Shearman, L. P., Pieschl, R. L., Gribkoff, V. K., Reppert, S. M.** (1997). *Molecular Dissection of Two Distinct Actions of Melatonin on the Suprachiasmatic Circadian Clock*. *Neuron*, 19(1). 91-102.

- Mang, G. M., La Spada, F., Emmenegger, Y., Chappuis, S., Ripperger, J. A., Albrecht, U., Franken, P.** (2016). *Altered Sleep Homeostasis in Rev-erba Knockout Mice*. *Sleep*, 39(3). 589-601.
- Maret, S., Dorsaz, S., Gurcel, L., Pradervand, S., Petit, B., Pfister, C., Hagenbuchle, O., O'Hara, B. F., Franken, P., Tafti, M.** (2007). *Homer1a Is a Core Brain Molecular Correlate of Sleep Loss*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(50). 20090-20095.
- Maronde, E., Pfeffer, M., Olcese, J., Molina, C. A., Schlotter, F., Dehghani, F., Korf, H-W., Stehle, J. H.** (1999). *Transcription Factors in Neuroendocrine Regulation: Rhythmic Changes in pCREB and ICER Levels Frame Melatonin Synthesis*. *The Journal of Neuroscience*, 19(9). 3326-3336.
- Methippara, M. M., Kumar, S., Alam, N., Szymusiak, R., McGinty, D.** (2005). *Effects on Sleep of Microdialysis of Adenosine A₁ and A_{2A} Receptor Analogs into the Lateral Preoptic Area of Rats*. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 289(6). 1715-1723.
- Mitsui, S., Yamaguchi, S., Matsuo, T., Ishida, Y., Okamura, H.** (2001). *Antagonistic Role of E4BP4 and PAR Proteins in the Circadian Oscillatory Mechanism*. *Genes and Development*, 15(8). 995-1006.
- Miyamoto, H., Katagiri, H., Hensch, T.** (2003). *Experience-Dependent Slow-Wave Sleep Development*. *Nature Neuroscience*, 6(6). 553-554.
- Mizoguchi, A., Eguchi, N., Kimura, K., Kiyohara, Y., Qu, W.-M., Huang, Z.-L., Mochizuki, T., Lazarus, M., Kobayashi, T., Kaneko, T., Narumiya, S., Urade, Y., Hayaishi, O.** (2001). *Dominant Localization of Prostaglandin D Receptors on Arachnoid Trabecular Cells in Mouse Basal Forebrain and their Involvement in the Regulation of Non-Rapid Eye Movement Sleep*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(20). 11674-11679.
- Moore, R. Y., Speh, J. C., Card, J. P.** (1995). *The Retinohypothalamic Tract Originates from a Distinct Subset of Retinal Ganglion Cells*. *The Journal of Comparative Neurology*, 352(3). 351-366.
- Nadkarni, N. A., Weale, M. E., von Schantz, M., Thomas, M. G.** (2005). *Evolution of a Length Polymorphism in the Human PER3 Gene, a Component of the Circadian System*. *Journal of Biological Rhythms*, 20(6). 490-499.
- Narasimamurthy, R., Hunt, S. R., Lu, Y., Fustin, J.-M., Okamura, H., Partch, C. L., Forger, D. B., Kim, J. K., Virshup, D. M.** (2018). *CK1 δ/ϵ Protein Kinase Primes the PER2 Circadian Phosphoswitch*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(23). 5986-5991.
- Naylor, E., Bergmann, B. M., Krauski, K., Zee, P. C., Takahashi, T. S., Vitaterna, M. H., Turek, F. W.** (2000). *The Circadian Clock Mutation Alters Sleep Homeostasis in the Mouse*. *Journal of Neuroscience*, 20(21). 8138-8143.
- Nosjean, O., Ferro, M., Cogé, F., Beauverger, P., Henlin, J.-M., Lefoulon, F., Fauchère, J.-L., Delagrangé, 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.
- Oishi, Y., Huang, Z.-L., Fredholm, B. B., Urade, Y., Hayaishi, O.** (2008). *Adenosine in the Tuberomammillary Nucleus Inhibits the Histaminergic System via A₁ Receptors and Promotes Non-Rapid Eye Movement Sleep*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(50). 19992-19997.
- Onoe, H., Ueno, R., Fujita, I., Nishino, H., Oomura, Y., Hayaishi, O.** (1988). *Prostaglandin D₂, a Cerebral Sleep-Inducing Substance in Monkeys*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85(11). 4082-4086.
- Oswald, I., Taylor A. M., Treisman, M.** (1960). *Discriminative responses to stimulation during human sleep*. *Brain*, 83(3). 440-453.

- Oudiette, D., Dealberto, M.-J., Ugucioni, G., Golmard, J.-L., Merino-Andreu, M., Tafti, M., Garma, L., Schwartz, S., Arnulf, I.** (2012). *Dreaming Without REM Sleep*. *Consciousness and Cognition*, 21(3). 1129-1140.
- Pfeiffenberger, C., Allada, R.** (2012). *Cul3 and the BTB Adaptor Insomniac Are Key Regulators of Sleep Homeostasis and a Dopamine Arousal Pathway in Drosophila*. *PLoS Genetics*, 8(10). 1-15.
- Porkka-Heiskanen, T., Strecker, R., McCarley, R.** (2000). *Brain Site-Specificity of Extracellular Adenosine Concentration Changes During Sleep Deprivation and Spontaneous Sleep: An In Vivo Microdialysis Study*. *Neuroscience*, 99(3). 507-517.
- Preitner, N., Damiola, F., Molina, L.-L., Zakany, J., Duboule, D., Albrecht, U., Schibler, U.** (2002). *The Orphan Nuclear Receptor REV-ERBa Controls Circadian Transcription within the Positive Limb of the Mammalian Circadian Oscillator*. *Cell*, 110(2). 251-260.
- Qu, W.-M., Huang, Z.-L., Xu, X.-H., Aritake, K., Eguchi, N., Nambu, F., Narumiya, S., Urade, Y., Hayaishi, O.** (2006). *Lipocalin-type Prostaglandin D Synthase Produces Prostaglandin D₂ Involved in Regulation of Physiological Sleep*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(47). 17949-17954.
- Qu, W.-M., Xu, X.-H., Yan, M.-M., Wang, Y.-Q., Urade, Y., Huang, Z.-L.** (2010). *Essential Role of Dopamine D₂ Receptor in the Maintenance of Wakefulness, but Not in Homeostatic Regulation of Sleep, in Mice*. *Journal of Neuroscience*, 30(12). 4382-4389.
- Ralph, C. L., Mull, D., Lynch, H. J., Hedlund, L.** (1971). *A Melatonin Rhythm Persists in Rat Pineals in Darkness*. *Endocrinology*, 89(6). 1361-1366.
- Ram, A., Pandey, H. P., Matsumura, H., Kasahara-Orita, K., Nakajima, T., Takahata, R., Satoh, S., Terao, A., Hayaishi, O.** (1997). *CSF Levels of Prostaglandins, Especially the Level of Prostaglandin D₂, Are Correlated with Increasing Propensity towards Sleep in Rats*. *Brain Research*, 751(1). 81-89.
- Ramkisoensing, A., Meijer, J. H.** (2015). *Synchronization of Biological Clock Neurons by Light and Peripheral Feedback Systems Promotes Circadian Rhythms and Health*. *Frontiers in Neurology*, 6. 1-16.*
- Rechtschaffen, A., Kales, A.** (1968). *A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects*. UCLA Brain Information.
- Reick, M., Garcia, J., Dudley, C., McKnight, S.** (2001). *NPAS2: An Analog of Clock Operative in the Mammalian Forebrain*. *Science*, 293(5529). 506-509.
- Ripperger, J. A., Schibler, U.** (2006). *Rhythmic CLOCK-BMAL1 Binding to Multiple E-box Motifs Drives Circadian Dbp Transcription and Chromatin Transitions*. *Nature Genetics*, 38(3). 369-374.
- Roffwarg, H. P., Muzio, J. N., Dement, W. C.** (1966). *Ontogenetic Development of the Human Sleep-Dream Cycle*. *Science*, 152(3722). 604-619.
- Rohling, J. H. T., van der Leest, H. T., Michel, S., Vansteensel, M. J., Meijer, J. H.** (2011). *Phase Resetting of the Mammalian Circadian Clock Relies on a Rapid Shift of a Small Population of Pacemaker Neurons*. *PLOS ONE*, 6(9). 1-9.
- Roth, M., Shaw, J., Green, J.** (1956). *The Form, Voltage Distribution and Physiological Significance of the K-Complex*. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 8(3). 385-402.
- Saper, C. B., Fuller, P. M., Pedersen, N. P., Lu, J., Scammell, T. E.** (2010). *Sleep State Switching*. *Neuron*, 68(6). 1023-1042.*
- Saper, C. B., Fuller, P. M.** (2017). *Wake-Sleep Circuitry: An Overview*. *Current Opinion in Neurobiology*, 44. 186-192.*

- Sato, T. K., Panda S., Miraglia, L. J., Reyes, T. M., Rudic, R. D., McNamara, P., Kinnery, A. N., FitzGerald, G. A., Steve, A. K., Hogenesch, J. B.** (2004). *A Functional Genomics Strategy Reveals Rora as a Component of the Mammalian Circadian Clock*. *Neuron*, 43(4). 527-537.
- Satvinder, K., Junek, A., Black, M. A., Semba, K.** (2008). *Effects of Ibotenate and 192IgG-Saporin Lesions of the Nucleus Basalis Magnocellularis/Substantia Innominata on Spontaneous Sleep and Wake States and on Recovery Sleep after Sleep Deprivation in Rats*. *Journal of Neuroscience*, 28(2). 491-504.
- Scammell, T. E., Arrigoni E., Lipton, J. O.** (2017). *Neural Circuitry of Wakefulness and Sleep*. *Neuron*, 93(4). 747-765.*
- Scammell, T. E., Gerashchenko, D. Y., Mochizuki, T., McCarthy, M. T., Estabrooke, I. V., Sears, C. A., Saper, C. B., Urade, Y., Hayaishi, O.** (2001). *An Adenosine A2a Agonist Increases Sleep and Induces Fos in Ventrolateral Preoptic Neurons*. *Neuroscience*, 107(4). 653-663.
- Shearman, L. P., Sathyanarayanan S., Weaver, D. R., Maywood, E. S., Chaves, I., Zheng, B., Kume, K., Lee, C. C., van der Horst, G. T. J., Hastings, M. H., Reppert, S. M.** (2000). *Interacting Molecular Loops in the Mammalian Circadian Clock*. *Science*, 288(5468). 1013-1019.
- Sherin, J. E., Elmquist, J. K., Torrealba, F., Saper, C. B.** (1998). *Innervation of Histaminergic Tubero-mammillary Neurons by GABAergic and Galaninergic Neurons in the Ventrolateral Preoptic Nucleus of the Rat*. *The Journal of Neuroscience*, 18(12). 4705-4721.
- Shete, V. V., Charantimath, A., Bormane, D. S.** (2013). *K-complex Detection in Sleep EEG Using Wavelet Transform and Statistical K-means Algorithm*. *International Journal of Innovative Research in Electrical, Electronics, Instrumentation and Control Engineering*, 1(4). 141-143.
- Shiromani, P. J., Xu, M., Winston, E. M., Shiromani, S. N., Gerashchenko, D., Weaver, D. R.** (2004). *Sleep Rhythmicity and Homeostasis in Mice with Targeted Disruption of mPeriod Genes*. *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 287(1). 47-57.
- Scher, M. S.** (2008). *Ontogeny of EEG Sleep from Neonatal Through Infancy Periods*. *Sleep Medicine*, 9(6). 615-636.*
- Schibler, U., Gotic, I., Saini, C., Gos, P., Curie, T., Emmenegger, Y., Sinturel, F., Gosselin, P., Gerber, A., Fleury-Olela, F., Rando, G., Demarque, M., Franken, P.** (2015). *Clock-Talk: Interractions between Central and Peripheral Circadian Oscillators in Mammals*. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 80. 223-232.*
- Schomerus, C., Korf, H.-W., Laedtke, E., Weller, J. L., Klein, D. C.** (2002). *Selective Adrenergic/Cyclic AMP-Dependent Switch-Off of Proteasomal Proteolysis Alone Switches on Neural Signal Transduction*. *Journal of Neurochemistry*, 75(5). 2123-2132.
- Schwierin, B., Borbély, A. A., Tobler, I.** (1996). *Effects of N⁶-cyclopentyladenosine and Caffeine on Sleep Regulation in the Rat*. *European Journal of Pharmacology*, 300. 163-171.
- Siclari, F., Baird, B., Perogamvros, L., Bernardi, G., LaRocque, J. J., Riedner, B., Boly, M., Postle, B. R., Tononi, G.** (2017). *The Neural Correlates of Dreaming*. *Nature Neuroscience*, 20(6). 872-878.
- Siclari, F., Bernardi, G., Cataldi, J., Tononi, G.** (2018). *Dreaming in NREM Sleep: A High-Density EEG Study of Slow Waves and Spindles*. *The Journal of Neuroscience*, 38(43). 9175-9185.
- Sigworth, L. A., Rea, M. A.** (2003). *Adenosine A1 Receptors Regulate the Response of the Mouse Circadian Clock to Light*. *Brain Research*, 960(1-2). 246-251.

- Slotten, H., Krekling, S., Pévet, P.** (2005). *Photic and Nonphotic Effects on the Circadian Activity Rhythm in the Diurnal Rodent *Arvicantis Ansozei**. *Behavioural Brain Research*, 165(1). 91-97.
- Sokoloff, P., Leriche, L., Le Foll, B.** (2006). *Dopamine Receptors: Structure, Function and Implication in Psychiatric Disorders*. *Psychopharmacogenetics*. 357-419.*
- Steininger, T. L., Alam, M. N., Gong, H., Szymusiak, R., McGinty, D.** (1999). *Sleep-waking Discharge of Neurons in the Posterior Lateral Hypothalamus of the Albino Rat*. *Brain Research*, 840(1-2). 138-147.
- Stenberg, D., Litonius, E., Halldner, L., Johansson, B., Fredholm, B. B., Porkka-Heiskanen, T.** (2003). *Sleep and its Homeostatic Regulation in Mice Lacking the Adenosine A₁ Receptor*. *Journal of Sleep Research*, 12(4). 283-290.
- Stern, J. M.** (2005). *Atlas of EEG Patterns*. 255-257.*
- Sun, X., Whitefield, S., Rusak, B., Semba, K.** (2001). *Electrophysiological Analysis of Suprachiasmatic Nucleus Projections to the Ventrolateral Preoptic Area in the Rat*. *European Journal of Neuroscience*, 14(8). 1257-1274.
- Suzuki, A., Yanagisawa, M., Greene, R. W.** (2020). *Loss of Arc Attenuates the Behavioral and Molecular Responses for Sleep Homeostasis in Mice*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(90). 10547-10553.
- Takahashi, K., Lin, J.-S., Sakai, K.** (2009). *Characterization and Mapping of Sleep-Waking Specific Neurons in the Basal Forebrain and Preoptic Hypothalamus in Mice*. *Neuroscience*, 161(1). 269-292.
- Teclerian-Mesbah, R., Ter Horst, G. J., Postema, F., Wortel, J., Buijs, R. M.** (1999). *Anatomical Demonstration of the Suprachiasmatic Nucleus-Pineal Pathway*. *The Journal of Comparative Neurology*, 406(2). 171-182.
- Tononi, G., Cirelli, C.** (2003). *Sleep and Synaptic Homeostasis: A Hypothesis*. *Brain Research Bulletin*, 62(2). 143-150.
- Tononi, G., Cirelli, C.** (2006). *Sleep Function and Synaptic Homeostasis*. *Sleep Medicine Reviews*, 10(1). 49-62.*
- Trachsel, L., Edgar, D. M., Seidel, W. F., Craig Heller, H.** (1992). *Sleep Homeostasis in Suprachiasmatic Nuclei-Lesioned Rats: Effects of Sleep Deprivation and Triazolam Administration*. *Brain Research*, 589(2). 253-261.
- Trávníčková-Bendová, Z., Cermakian, N., Reppert, S. M., Sassone-Corsi, P.** (2002). *Bimodal Regulation of mPeriod Promoters by CREB-dependent Signaling and CLOCK/BMAL1 Activity*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(11). 7728-7733.
- Ueno, R., Ishikawa, Y., Nakayama, T., Hayaishi, O.** (1982). *Prostaglandin D₂ Induces Sleep When Microinjected into the Preoptic Area of Conscious Rats*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 109(2). 576-582.
- Urade, Y., Hayaishi, O.** (2011). *Prostaglandin D₂ and Sleep/Wake Regulation*. *Sleep Medicine Reviews*, 15(6). 411-418.*
- Van Diepen, H. C., Lucassen, E. A., Yassenkov, R., Groenen, I., Ijzerman, A. P., Meijer, J. H., Deboer, T.** (2014). *Caffeine Increases Light Responsiveness of the Mouse Circadian Pacemaker*. *European Journal of Neuroscience*, 40(10). 3504-3511.
- Van Diepen, H. C., Ramkisoensing, A., Peirson, S. N., Foster, R. G., Meijer, J. H.** (2013). *Irradiance Encoding in the Suprachiasmatic Nuclei by Rod and Cone Photoreceptors*. *The FASEB Journal*, 27(10). 4204-4212.

- Viola, A. U., Chellappa, S. L., Archer, S., Pugin, F., Götz, T., Dijk, D.-J., Cajochen, C.** (2012). *Interindividual Differences in Circadian Rhythmicity and Sleep Homeostasis in Older People: Effect of a PER3 Polymorphism*. *Neurobiology of Aging*, 33(5). 17-27.
- Volkow, N. D., Wang, G.-J., Telang, F., Fowler, J. S., Logan, J., Wong, C., Ma, J., Pradhan, K., Tomasi, D., Thanos, P. K., Ferré, S., Jayne, M.** (2008). *Sleep Deprivation Decreases Binding of [¹¹C]Raclopride to Dopamine D₂/D₃ Receptors in the Human Brain*. *Journal of Neuroscience*, 28(34). 8454-8461.
- Vyazovskiy, V. V., Tobler, I.** (2005). *Theta Activity in the Waking EEG Is a Marker of Sleep Propensity in the Rat*. *Brain Research*, 1050(1-2). 64-71.
- Wang, M.-H., Chen, N., Wang, J.-H.** (2014). *The Coupling Features of Electrical Synapses Modulate Neuronal Synchrony in Hypothalamic Superchiasmatic Nucleus*. *Brain Research*, 1550. 9-17.
- Wehr, T. A.** (1997). *Melatonin and Seasonal Rhythms*. *Journal of Biological Rhythms*, 12(6). 518-527.
- Williams, H. L., Tepas, D. I., Morlock, H. C.** (1962). *Evoked Responses to Clicks and Electroencephalographic Stages of Sleep in Man*. *Science*, 138(3541). 685-686.
- Williams, L. M.** (1989). *Melatonin-Binding Sites in the Rat Brain and Pituitary Mapped by In-Vitro Autoradiography*. *Journal of Molecular Endocrinology*, 3(1). 71-75.
- Wisor, J. P., O'Hara, B. F., Terao, A., Selby, C. P., Kilduff, T. S., Sancar, A., Edgar, D. M., Franken, P.** (2002). *A Role for Cryptochromes in Sleep Regulation*. *BMC Neuroscience*, 3(1). 1-14.
- Wolf, E., Kuhn, M., Normann, C., Mainberger, F., Maier, J. G., Maywald, S., Bredl, A., Klöppel, S., Biber, K., van Calker, D., Riemann, D., Sterr, A., Nissen, C.** (2016). *Synaptic Plasticity Model of Therapeutic Sleep Deprivation in Major Depression*. *Sleep Medicine Reviews*, 30. 53-62.
- Ye, R., Selby C. P., Ozturk, N., Annayev, Y., Sancar, A.** (2011). *Biochemical Analysis of the Canonical Model for the Mammalian Circadian Clock*. *Journal of Biological Chemistry*, 286(29). 25891-25902.
- Yu, L., Schaad, N. C., Klein, D. C.** (1993). *Calcium Potentiates Cyclic AMP Stimulation of Pineal Arylalkylamin N-Acetyltransferase*. *Journal of Neurochemistry*, 60(4). 1436-1443.
- Zavada, A., Strijkstra, A. M., Boerema, A. S., Daan, S., Beersma, D. G. M.** (2009). *Evidence for Differential Human Slow-Wave Activity Regulation Across the Brain*. *Journal of Sleep Research*, 18(1). 3-10.
- Zhao, M., Zhang, T., Yu, F., Guo, L., Wu, B.** (2018). *E4bp4 Regulates Carboxylesterase 2 Enzymes Through Repression of the Nuclear Receptor Rev-erba in Mice*. *Biochemical Pharmacology*, 152. 293-301.