

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



**Kateřina Ševčíková**

Cirkadiánní podstata lidského chronotypu

Circadian principle of human chronotype

Bakalářská práce

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

Praha, 2016

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval/a samostatně a že jsem uvedl/a všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 19. 8. 2016

Podpis

Ráda bych poděkovala své školitelce doc. RNDr. Zdeňce Bendové, Ph.D. za velkou míru trpělivosti a ochoty při psaní této práce.

## **Abstrakt**

Cirkadiánní systém je oscilující systém s přibližně 24 hodinovou periodou. U člověka je složen ze suprachiasmatického jádra a periferních oscilátorů. Suprachiasmatické jádro pomocí vnějších podnětů synchronizuje svou endogenní periodu vzhledem k denní době. Je regulován pomocí hodinových genů. Cirkadiánní systém ovlivňuje hladiny hormonů a společně s homeostatickým systémem je hlavní regulátor spánku. V těchto cyklických systémech se u člověka vyskytují určité rozdíly, které definují jeho tzv. chronotyp. Tato práce se zabývá změnami cirkadiánního systému ve vztahu k formování lidského chronotypu. Věnuje se polymorfizmům hodinových genů, periodě rytmů v produkci hormonů jakou jsou melatonin a kortisol a jejich rozdíly u různých chronotypů. U cirkadiánních chronotypů byly nalezeny také rozdíly ve spánkových cyklech NREM a REM a jejich amplitudách. Cirkadiánní systém a chronotyp jsou závislé na věku a pohlaví.

**Klíčová slova:** Cirkadiánní systém, chronotyp, hodinové geny, suprachiasmatická jádra, spánek, melatonin.

## **Abstract**

Circadian system is an oscillating system with approximately 24 hour period. In humans, it consists of suprachiasmatic nuclei and peripheral oscillators. Suprachiasmatic nuclei by means of external stimuli synchronize its endogenous period about the time of day. It is controlled by clock genes. The circadian system affects hormone levels, and with the homeostatic system is the major regulator of sleep. In these cyclic systems in humans, there are some differences that define human chronotype. This thesis is focused on the changes in the circadian system that underlie human chronotype. It deals with polymorphisms of clock genes, periods of the rhythms in the production of hormones such as melatonin and cortisol and their differences in distinct chronotypes. At the circadian chronotypes, there were also found differences in REM and REM sleep cycles and their amplitudes. Chronotype and circadian system are dependent on age and gender.

**Key words:** Circadian system, chronotype, circadian clock genes, suprachiasmatic nuclei, sleep, melatonin.

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b>	<b>1</b>
1.1	Suprachiasmatická jádra	1
1.2	Periferní oscilátory	2
1.3	Světelná synchronizace	2
1.4	Cirkadiánní rytmy a chronotyp	3
<b>2</b>	<b>Hodinové geny</b>	<b>4</b>
2.1	Hodinové geny a vznik chronotypu	5
2.1.1	Clock	5
2.1.2	Per1	6
2.1.3	Per2	6
2.1.4	Per3	6
<b>3</b>	<b>Změny v cirkadiánním systému chronotypů</b>	<b>7</b>
3.1	Kortisol	7
3.2	Melatonin	7
3.3	Spánek	8
3.3.1	NREM fáze	8
3.3.2	REM fáze	9
3.3.3	Dvouprocesový model regulace spánku	9
3.3.4	Spánkový cyklus a regulace	10
3.3.5	Spánek a chronotyp	12
3.4	Změna chronotypu během vývoje člověka	16
3.5	Rozdíly v chronotypech podle pohlaví	17
<b>4</b>	<b>Závěr</b>	<b>18</b>
<b>5</b>	<b>Literatura</b>	<b>20</b>

## Seznam použitých zkratk:

AANAT	enzym N-acetyltransferáza
ASPS	syndrom předběhnuté spánkové fáze
AVP	argininvasopresin
<i>Bmal1</i>	<i>brain and muscle arnt-like protein 1</i>
<i>CK1ε/δ</i>	<i>kasein-kinasa1ε/δ</i>
<i>Clock</i>	<i>circadian locomotor output cycles kaput</i>
<i>Cry1, Cry2, CRY</i>	<i>Cryptochrome1, 2</i>
DLMO	dim light melatonin onset
DM	dorsomediální
DSPS	syndrom opožděné spánkové fáze
DTS	The Diurnal Type Scale
EEG	elektroencefalogram
EMG	elektromyogram
EOG	Elektrookulogram
GABA	Kyselina γ-aminomáselná
GRP	gastrin uvolňující peptid
MCTQ	Munich Chronotype Questionnaire
MEQ	Morningness-Eveningness Questionnaire
MT1	Mel 1a receptor
MT2	Mel 1b receptor
NAAT	enzym N-acetyltransferáza
NREM	non-rapide eye movement
<i>Per1, Per2, Per3</i>	<i>Period1, 2, 3</i>
PTAF	power in theta-alpha frequencies
REM	rapide eye movement
<i>Rora</i>	<i>retinoic acid-related orphan receptor a</i>
SCN	Suprachiasmatic nuclei
SW	slow wave vlny

SWA	slow wave activity
SWS	slow wave sleep
VIP	vasoaktivní intestinální polypeptid
VL	ventrolaterální
VLPO	ventrolaterální preoptické jádra

# 1 Úvod

„Cirkadiánní“ je původem z latinského „circa dies“, které znamená „zhruba denní“. Jsou to endogenně generované rytmy, s periodou trvajícím přibližně 24 hodin, která je dána geneticky. Endogenní rytmy přetrvávají i v neperiodickém prostředí, ve kterém ovšem dochází k jejich předbíhání nebo opoždění vůči světelnému cyklu danému rotací Země kolem své osy. Cirkadiánní systém má za úkol generovat cirkadiánní rytmy a zajišťovat jejich synchronizaci s vnějším prostředím, aby nedocházelo k jejich fázovému posunu vůči vnějšímu času (Gehring & Rosbash, 2003).

Suprachiasmatická jádra (SCN) jsou centrálním oscilátorem (pacemakerem) cirkadiánního systému savců. Centrální hodiny v SCN jsou jako jediné přímo spojené s retinou, mohou tak přijímat informace o světle, které je stále seřizuje, aby nedocházelo k jejich zpoždění či předbíhání vůči světelnému cyklu (Klein *et al.*, 1991). Další, tzv. periferní oscilátory se nachází i v dalších částech mozku a také v různých orgánech a tkáních těla. Jednotlivé oscilátory jsou částečně autonomní, ovšem pro správné fungování cirkadiánního systému musí být hodiny v těle synchronizovány i mezi sebou navzájem (Balsalobre, 2002). Cirkadiánní systém savců je hierarchicky uspořádán. Centrální hodiny seřizují periferní hodiny, aby byly ve správných fázích k sobě navzájem tak i k denní době. Bez správné synchronizace není zajištěná správná funkce systému.

## 1.1 Suprachiasmatická jádra

Suprachiasmatická jádra jsou párové shluky neuronů v předním hypotalamu, která jsou uložena přímo nad překřížením optických nervů, chiasma opticum. SCN obsahují celkem 20 000 neuronů a morfologicky a funkčně se dělí na část ventrolaterální (VL), tzv. jádro (z angl. core) a dorsomediální (DM), tzv. obal (z angl. shell) (Klein *et al.*, 1991; Moore *et al.*, 2002; Bernard *et al.*, 2007).

VL část SCN je zásadní pro propojení částí SCN a jejich synchronizaci uvnitř SCN (LeSauter & Silver, 1999). Je umístěna v těsné blízkosti křížení optických nervů, tudíž dobře přijímá informace z retiny a je přímo ovlivňována světlem (Levine *et al.*, 1991). Umí však přijímat i nesvětelné podněty z dalších drah vedoucích z ostatních částí mozku. VL část SCN obsahuje vasoaktivní intestinální polypeptid (VIP) a gastrin uvolňující peptid (GRP) (Moga & Moore, 1997).

DM část, která obklopuje VL část SCN, má menší a více na sobě nahuštěné buňky v



porovnání s VL. Přijímají informace z VL části, tak z ostatních částí mozku, např. z jader mozkového kmene, či limbických oblastí. Během subjektivního dne neurony DM části tvoří spontánní rytmické oscilace s vysokou amplitudou. Těmito neurony je syntetizován neuropeptid arginin vasopresin (AVP) (Moga & Moore, 1997). Obě dvě části SCN obsahují neurotransmitter kyseliny  $\gamma$ -aminomáselnou (GABA) (Gao *et al.*, 1995).

Ventrolaterální jádro zprostředkovává komunikaci s dorsomediálním jádrem hypotalamu, který je zapojen v regulaci fyziologických výstupních rytmů. Poškození DM jádra způsobuje ztrátu cirkadiálních rytmů v cyklu spánek-bdění, sekreci kortikosteroidů a lokomoční aktivitě. Neovlivňuje ovšem rytmus tělesné teploty (Chou *et al.*, 2003).

Role SCN jako cirkadiálního oscilátoru byla prokázána až v 80. letech minulého století. Bylo provedeno několik pokusů na křečcích, u kterých bylo SCN odstraněno elektrickou lézí a tím došlo k vymizení rytmicity celého organismu (Ralph & Menaker, 1988). Poté byly SCN transplantovány zpět a cirkadiální rytmus hostitele byl obnoven s fází původního dárce (Ralph *et al.*, 1990). Za organizaci celého cirkadiálního systému je tedy zodpovědné právě SCN, které funguje jako hlavní pacemaker biologických hodin.

## 1.2 Periferní oscilátory

Periferní oscilátory jsou schopné samy generovat cirkadiální rytmy, ale musejí být seřizovány pomocí synchronizačních signálů z SCN, jinak by docházelo k jejich vzájemné desynchronizaci a pozvolnému vyhasínání jejich rytmicity (Yoo *et al.*, 2004). Periferní oscilátory se vyskytují i mimo neuronální tkáň, například v játrech, ledvinách a tlustém střevě (Yamazaki, 2011; Yoo *et al.*, 2004). Prakticky každá buňka v těle savců vykazuje cirkadiální rytmicitu. Pokud ale ztratí signál se SCN, časem oscilace vymizí (Yamazaki, 2011). Výjimku z toho schématu tvoří retina a bulbus olfactorius, které jsou autonomní vůči SCN a oscilují i bez jeho vlivu (Tosini & Menaker, 1996; Granados-Fuentes *et al.*, 2004).

## 1.3 Světelná synchronizace

Endogenní pacemaker podléhá synchronizaci s fází vnějšího prostředí. Dochází k tomu díky fázovým posunům jeho endogenních oscilací, což vede ke zpomalení nebo zrychlení exprese hodinových genů. Tato synchronizace probíhá rytmicky se opakujícími

impulsy z vnějšího prostředí, tzv. zeitgebery (synchronizátory).

Světlo je považováno za hlavní synchronizátor. Působí-li světlo k večeru či na začátku noci, ve vnitřním rytmu biologických hodin dojde k fázovému zpoždění. V případě působení světla ke konci noci či časně z rána, dojde k fázovému předběhnutí. Během subjektivního dne, kdy je organismus ve stálé tmě, nedochází při působení světla k žádným posunům (Golombek & Rosenstein, 2010).

#### **1.4 Cirkadiánní rytmy a chronotyp**

Cirkadiánní typy, neboli chronotypy člověka jsou určovány interakcí odlišností v cirkadiánním systému (zejména v hodinových genech) s individuálními faktory, jako jsou věk a pohlaví.

Chronotypy mohou být děleny do tří základních typů: ranní, nevyhraněný a večerní. Ranní typy vstávají a usínají brzo a vrchol jejich fyzické a mentální aktivity je v ranních a dopoledních hodinách. Naopak večerní typy mají tendence vstávat a uléhat později a jsou nejvíce produktivní ve večerních hodinách.

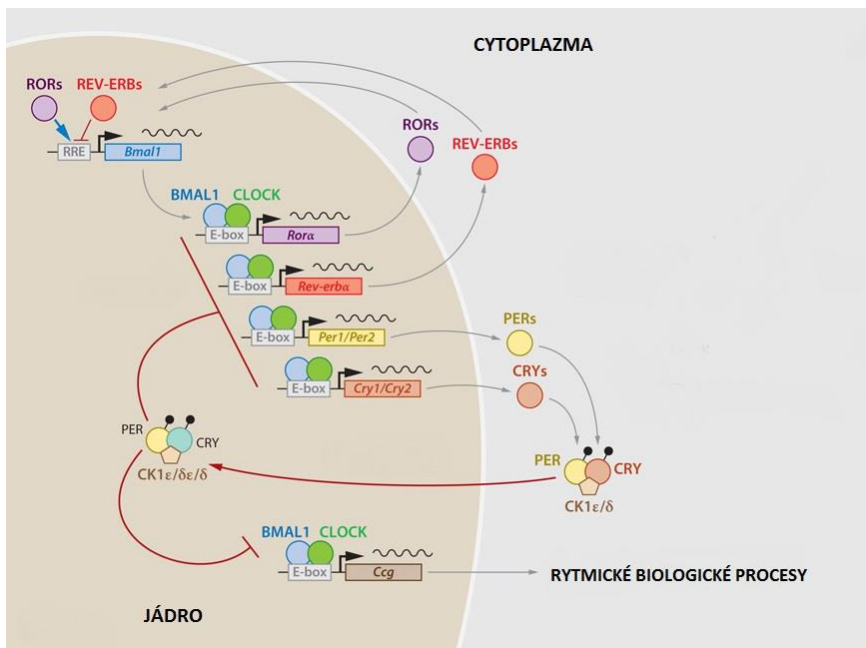
Chronotypy mohou být rozlišovány pomocí několika rozšířených dotazníků. Mezi nejpoužívanější dotazník patří Hornův a Ostbergův Morningness-Eveningness Questionnaire (MEQ) (Horne & Ostberg, 1976). Jedná se o sebehodnotící dotazník, zjišťující spánkové zvyky a organizaci dne jak během pracovních dní, tak během volných dnů. Dotazník obsahuje 19 otázek se 4 nebo 5 možnostmi odpovědí. Dále jsou používány the Diurnal Type Scale (DTS) (Torsvall & Akerstedt, 1980) a nejnovější Munich Chronotype Questionnaire (MCTQ) (Roenneberg *et al.*, 2003).

## 2 Hodinové geny

Cirkadiánní oscilátory mají autonomní způsob generování rytmického signálu. Je dán autoregulačními transkripčně-translačními zpětnovazebnými smyčkami. Jaderné geny *Bmal1* (brain and muscle Arnt-like protein 1) a *Clock* (circadian locomotor output cycles kaput) jsou označovány jako hodinové geny. Nacházejí se jak v neuronech SCN, tak i v buňkách periferních orgánů. Jejich poškození může vést k narušení, nebo až ke ztrátě cirkadiánní rytmicity. Tyto geny kódují proteiny BMAL1 a CLOCK, které patří mezi transkripční faktory (Gekakis *et al.*, 1998). Za další hodinové geny jsou považovány *Period1* (*Per1*), *Period2* (*Per2*) a *Period3* (*Per3*), *Cryptochrome1* (*Cry1*), *Cryptochrome2* (*Cry2*), *Rev-erba*, *Rora* (retinoic acid-related orphan receptor a) a *kasein-kinasa1ε/δ* (*CK1ε/δ*) (Ko & Takahashi, 2006).

CLOCK a BMAL1 tvoří v cytoplazmě heterodimer CLOCK:BMAL1, který je translokován do jádra, kde nasedá na E-box v oblasti promotoru skupiny genů *Per* a *Cry* a promotoru genů *Rev-erba* a *Rora*, kde tímto zahájí jejich transkripci. Po transkripci jsou v cytoplazmě tvořeny jejich proteiny. Proteiny PER1, 2, 3 a CRY1, 2 utvoří heterodimerní komplexy a jsou transportovány zpět do jádra. Vzniklý komplex PER:CRY inhibuje aktivitu CLOCK:BMAL1 komplexu, čímž nepřímo inhibuje vlastní transkripci (Jin *et al.*, 1999). Protein REV-ERBα je společně s proteinem RORA transportován do jádra, kde mezi sebou kompetují o specifickou sekvenci RORE v promotoru genu BMAL1. Při navázání REV-ERBα dochází ke snižování množství proteinu BMAL1 a tím dochází k inhibici transkripce regulované komplexem CLOCK:BMAL1 (Preitner *et al.*, 2002). Při navázání RORA, dochází k pozitivní regulaci exprese (Sato *et al.*, 2004; Akashi & Takumi, 2005; obr. 1).

Další důležitou roli hraje *kasein-kinasa1ε/δ* (*CK1ε/δ*). Tato kináza fosforyluje proteiny PER a CRY a značí je tak pro pozdější ubiquitylaci a degradaci. Fosforylace hodinových genů kinázou *CK1ε/δ* určuje délku vnitřní cirkadiánní periody u savců.



**Obrázek 1:** Molekulární mechanismus cirkadiálních hodin u savců. Aktivační BMAL1 a CLOCK proteiny vytvoří heterodimer a nasednutím na E-box zahajují transkripci *Per1*, *Per2*, *Cry1*, *Cry2*, *Rev-erba* a *Rora*. Proteiny PER1, 2 a CRY1, 2 utvoří heterodimer, který zpětně inhibuje aktivitu CLOCK:BMAL1 komplex. Protein REV-ERB $\alpha$  a RORA regulují transkripci genu *Bmal1*. Upraveno podle (Mohawk *et al.*, (2012)).

## 2.1 Hodinové geny a vznik chronotypu

Jelikož cirkadiální a spánkové rytmy společně určují chronotypy, je možné, že mezi hodinovými geny existují různé varianty, které mohou napomoci k utváření jednotlivých chronotypů. Zatím nejúspěšnější identifikace genetických rozdílů u chronotypů bylo nalezení několika genetických polymorfismů, které jsou spojeny s rozdíly v cirkadiálním systému. Byly nalezeny rozdíly u genů *Clock* (Katzenberg *et al.*, 1998), *Per1* (Carpen *et al.*, 2006), *Per2* (Carpen *et al.*, 2005) a *Per3* (Archer *et al.*, 2003). Nicméně několika dalším studiím se nepodařilo vztah genů *Clock* a *Per3* ke vzniku chronotypu znovu potvrdit (Barclay *et al.*, 2011).

### 2.1.1 Clock

Jednonukleotidový polymorfismus lokalizovaný na 3' konci lidského genu *Clock* byl zkoumán jako možný ukazatel denních preferencí, tedy odlišných chronotypů. Ranní a večerní typy dobrovolných účastníků studie byly určeny pomocí Horne-Östbergova dotazníku. Ve vzorcích jejich tkáně byla objevena alela 3111C, která se vyskytovala výrazně častěji u večerních typů. Na základě toho je možno předpokládat, že se jedná o spojitost s daným chronotypem (Katzenberg *et al.*, 1998).

### 2.1.2 Per1

V roce 2006 byla publikována studie, jejíž cílem bylo nalezení možných změn v genu kódující jeden z nejdůležitějších hodinových genů *Per1*. Z bukálního stěru DNA dobrovolníků rozlišených pomocí dotazníků do různých skupin chronotypů byl proveden jak screening kódující oblasti genu *Per1*, tak i nepřeložených 5'-3' konců a oblast promotoru za účelem nalezení polymorfismu. Výsledky studie ukázaly T2434C polymorfismus v exonu 18 *Per1*, který byl asociován s extrémními denními preferencemi. C2434 alela byla častěji nacházena u extrémních ranních typů. Toto byla první popsána asociace mezi *Per1* polymorfismem a extrémním chronotypem (Carpen *et al.*, 2006).

### 2.1.3 Per2

Mutace v lidském *Per2* genu je spojována se syndromem předběhnuté spánkové fáze (ASPS) a zkoumat proto zapojení tohoto genu do vzniku či udržení chronotypů bylo logické. Byly zkoumány tři jedno-nukleotidové polymorfismy v *hPer2* genu. Jeden na transkripčním začátku (C-228T), druhý v exonu 2 v 5' netranslatované oblasti (C111G) a třetí missense mutace (G3853A), způsobující substituci glycinu za glutamin. Frekvence alely C111G byla průkazně vyšší u lidí s extrémní ranní preferencí. U zbylých dvou alel nebyla nalezena žádná spojitost se žádnou skupinou chronotypů (Carpen *et al.*, 2005). Syndrom ASPS je, stejně jako ranní chronotyp, spojen se zkrácenou cirkadiánní periodou. Zdá se tedy, že gen *Per2* hraje významnou roli v udržení dostatečně dlouhé cirkadiánní periody a jeho mutace vede spíše k jejímu zkrácení než zpoždění.

### 2.1.4 Per3

Gen *Per3* nepatří mezi klasické hodinové geny, je považován za spíše „hodinami-kontrolovaný gen“, ale vzhledem k vysoké homologii s geny *Per1* a *Per2* bývá často uváděn ve stejné skupině. V souvislosti se spánkovými odlišnostmi a chronotypy je zkoumán jeho polymorfismus projevující se jako různý počet tandemových repetitiv (VNTR). Ve studii z roku 2003 *Per3* polymorfismus významně koreloval s extrémními denními typy; delší alela (5 repetitiv) asociovala s ranními, kratší alela (4 repetice) s večerními chronotypy. Kratší alela byla silně spojena s pacienty trpící opožděnou spánkovou fází (DSPS) (Archer *et al.*, 2003; Jones *et al.*, 2007).

### 3 Změny v cirkadiánním systému chronotypů

Lidé odlišného chronotypu se rozlišují zejména na základě jejich tzv. denní preference, tj. času, ve kterém jsou maximálně aktivní a jejich kognitivní schopnosti jsou nejlepší. Tato vlastnost je ale podpořena i fyziologickými změnami, jak jsou například změny v cirkadiánní regulaci produkce hormonů nebo v regulaci spánku.

#### 3.1 Kortisol

Produkce kortisolu kůrou nadledvin je regulována cirkadiánním systémem tak, aby byla nejvyšší v době okolo probouzení a na počátku aktivity. Kortisol může být stanovován ze slin, nebo přímo z krve. Při studii produkce kortisolu u chronotypů se ukázalo, že akrofáze rytmu kortisolu ranních typů nastala o 55 minut dříve než u večerních. Je zajímavé, že i amplituda rytmu kortisolu byla nižší u večerních chronotypů (Bailey & Heitkemper, 2001; Oginska *et al.*, 2010). Zdá se, že díky vyšší a časnější hladině kortisolu v krvi jsou ranní typy lépe připraveny na denní činnosti. To může posloužit jako vysvětlení, proč ranním typům dělá menší potíže ráno vstát a trpí ospalostí a únavou po kratší dobu.

#### 3.2 Melatonin

Melatonin je považován za nejlepší marker fáze lidského cirkadiánního systému (Benloucif, 2005). Hormon melatonin je tvořený v epifýze (Lerner *et al.*, 1958). Je syntetizován z L-tryptofanu díky enzymu N-acetyltransferáza (AANAT) (Illnerová & Vaněček, 1988). Tryptofan z krve je hydroxylován a dekarboxylován a tím přeměněn na serotonin. Díky enzymu AANAT je ze serotoninu vytvořen N-acetylserotonin, který je následně dále methylován enzymem hydroxynidol-O-methyl transferázou za vzniku melatoninu (Axelrod, 1974). SCN má na starosti regulaci cirkadiánního rytmu syntézy melatoninu tak, aby jeho hladina dosahovala maximálních hodnot za tmy, kdy tělesná teplota a výkonnost klesají na minimum (Rajaratnam & Arendt, 2001; Pévet *et al.*, 2006). Rytmus melatoninu může sloužit jako dobrý marker pro určení chronotypu člověka. Mnohé studie ukázaly, že počátek zvýšené hladiny melatoninu, akrofáze rytmu i ranní pokles jsou u ranních typů přibližně o 3 hodiny předběhnuty oproti večerním, ovšem beze změny v amplitudě (Gibertini *et al.*, 1999; Benloucif, 2005; Lack *et al.*, 2009).

Melatonin může pomoci v regulaci spánku. Pokud podáme melatonin v časné

noci, je schopný vyvolat fázové předběhnutí, což se využívá například k léčbě jet lag syndromu vzniklém po přeletu přes časová pásma (Arendt *et al.*, 1986). Po podání melatoninu stoupá ospalost a je tím prodloužena doba spánku (Sharkey *et al.*, 2001). Zachování amplitudy cirkadiálního rytmu melatoninu je také považováno za biologický marker spojovaný se stárnutím. Případné snížení amplitudy rytmu má pravděpodobně souvislost s neurogenerativními onemocněními a psychiatrickými patologiemi (Magri *et al.*, 2004).

### **3.3 Spánek**

Spánek je reverzibilní behaviorální stav, který je popsán jako stav ztráty vědomí. Vnímání a reagování na okolní prostředí je během spánku sníženo. Spánek je obvykle asociován se zavřenýma očima, posturální polohou v leže a celkovým útlumem.

Spánek je monitorován metodou polysomnografie. Rozlišujeme 3 základní polysomnografické techniky. Elektrookulogram (EOG), elektromyogram (EMG) a elektroencefalogram (EEG). EOG hodnotí pohyb očí, EMG zaznamenává svalovou aktivitu a EEG zaznamenává změny bioelektrické aktivity nervových buněk mozku v průběhu času (Carskadon *et al.*, 2000). Během EEG jsou zaznamenávány vlnové frekvence o těchto hodnotách: SWS 1-5 Hz, theta vlny 4-8 Hz, alfa vlny 8-12 Hz, nízké sigma vlny 12-14 Hz, vysoké sigma vlny 14-16 Hz, beta vlny 16-24 Hz, které byly určeny roku 1969 (Rechtschaffen & Kales, 1969).

Spánek dělíme na NREM fázi (non-rapide eye movement, v překladu spánek bez rychlých pohybů očí) a REM fázi (repide eye movement, v překladu spánek s rychlými pohyby očí). Tyto fáze můžeme definovat následovně:

#### **3.3.1 NREM fáze**

NREM fáze jsou popisovány podle elektrické aktivity mozku pomocí EEG. NREM fáze je obvykle definována jako synchronní vlny elektrické aktivity s charakteristickými křivkami, jako jsou K-komplexy, spánková vřeténka a delta vlny, neboli slow waves. NREM fáze je dělena na 4 stadia. 3. a 4. stadium NREM spánku se také označuje jako spánek pomalých vln (z anglického slow wave sleep, SWS) (Carskadon & Dement, 2011). Během NREM spánku dochází k minimální aktivitě mozku.

### 3.3.2 REM fáze

Pro REM fázi je charakteristická vysoká mozková aktivita, svalová atonie a opakující se krátké, rychlé pohyby očí, které bývají ještě doprovázeny svalovými škuby a kardiorespirační nepravidelností. V průběhu REM fáze se zdají sny. Při probuzení v této fázi spánku dosahuje úspěšnost vybavení si vlastního snu až 80%. Díky inhibici míšních motorických neuronů mozkového kmene dochází během REM fáze k potlačení posturálního tonu (Carskadon & Dement, 2011).

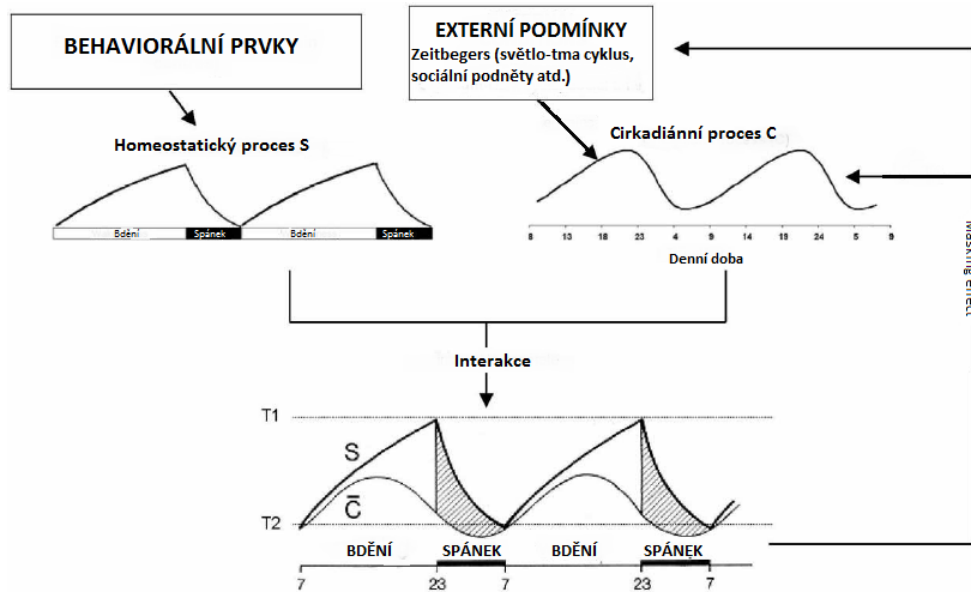
### 3.3.3 Dvouprocesový model regulace spánku

Nástup spánku popisuje Borbélyho model regulace spánku. Spánek je řízen procesem homeostatickým (proces S) a procesem cirkadiánním (proces C). Kombinace těchto dvou procesů umožňuje odhadnout načasování spánku, jeho kvalitu a délku. Proces S je homeostatický proces navozující spánek. Homeostatická potřeba spánku kontinuálně stoupá s dobou strávenou v bdělém stavu a v průběhu spánku naopak klesá. Je tedy přímo závislá na spánkové historii (Daan *et al.*, 1984).

Proces C má přibližnou 24 hodinovou periodu. Křivka procesu C zobrazuje oscilace cirkadiánního pacemakeru (Borbély, 1982 podle (Van Dongen & Dinges, 2003)). Proces C je nezávislý na spánkové historii (Achermann & Borbély, 1999). Jakožto systém navozující bdělost působí proces C právě proti procesu S (Rogers *et al.*, 2003). Proces C dosahuje svého maxima několik hodin před usnutím, působí proti stoupajícímu procesu S a brání tak předčasnému usnutí. Během spánku je naopak proces C na svém minimu, takže tlak na spánek je vysoký a zabraňuje předčasnému probuzení (Dijk *et al.*, 1999) (obr. 2).

Tyto procesy ještě mohou být ovlivňovány vnějšími vlivy prostředí a chováním, jako je např. fyzická aktivita, příjem jídla, stres, okolní teplota, příjem některých látek jako kofeinu, případně léků jako modafinil apod. Tyto vnější vlivy, mají tzv. „masking effect“, protože mohou ovlivňovat až maskovat vnější projev endogenního běhu C a S procesů (Goel *et al.*, 2013).

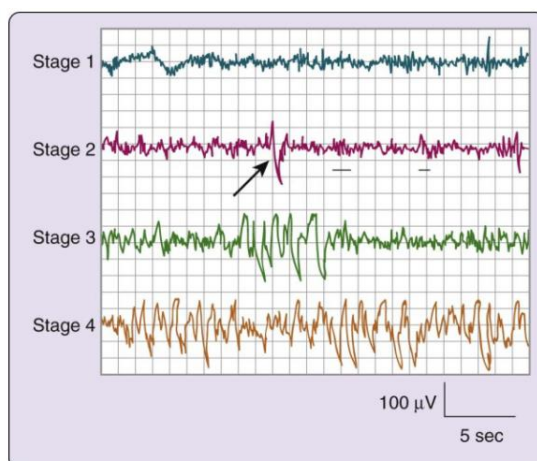




**Obrázek 2:** Dvouprocesový model regulace spánku. Homeostatický proces S představuje vnitřní tendence ke spánku, který stoupá během bdělého stavu a klesá během spánku. Prahy T1 (práh usnutí) a T2 (práh probuzení) vymezující S, jsou spoluvytvářeny cirkadiánním procesem C. Cirkadiánní pacemaker ovlivňován externími podmínkami, generuje či synchronizuje různé fyziologické cirkadiánní oscilace. Upraveno podle (Daan *et al.*, 1984).

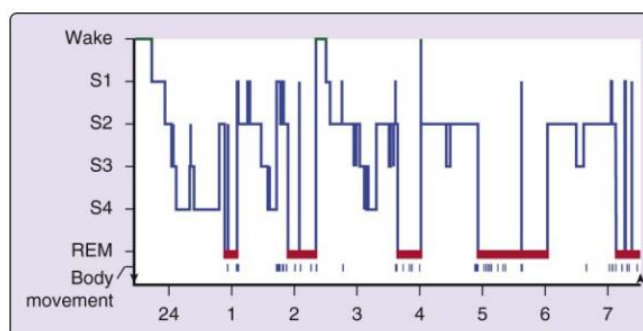
### 3.3.4 Spánkový cyklus a regulace

Během usínání dochází ke zvýšení hladiny melatoninu a poklesu hladin kortisolu a tělesné teploty. Při probouzení dochází k opačným tendencím, tedy snížení hladiny melatoninu a zvýšení hladin kortisolu. První NREM – REM cyklus trvá přibližně 70-100 minut, další cykly se prodlužují přibližně na 90 – 120 minut. V první části spánku převažuje NREM fáze nad REM fází, ovšem v průběhu noci se REM fáze prodlužuje a ke konci převažuje. Spánek vždy nastupuje prvním stadiem NREM spánku. Tento spánek lze velmi snadno přerušit okolními zvuky. V druhém stádiu NREM fáze se vyskytují spánková vřeténka a K- komplexy (obr. 3).



**Obrázek 3:** Stádia NREM spánku zaznamenaná pomocí elektroencefalogramu (EEG). Šipka označuje K-komplex a podtržené části značí spánková vřeténka (Carskadon & Dement, 2011).

Ve třetím stádiu dochází ke vzrůstající aktivitě pomalých delta vln. Po pár minutách dochází k přesunu do 4. stádia NREM. V tomto stádiu je výskyt pomalých delta vln velmi vysoký (přes 50%). NREM a REM spánek se v průběhu noci cyklicky střídají. Třetí a čtvrté stádium NREM fáze se v průběhu cyklů vytrácí a dále se střídají jen první a druhé stádium NREM s REM spánkem (Carskadon & Dement, 2011; obr. 4).



**Obrázek 4:** Vývoj spánkových stádií během doby spánku u zdravého člověka. Podle (Carskadon & Dement, 2011).

K řízení spánku jsou nezbytné oblasti hypotalamu, mozkového kmene a předního mozku (Saper, Scammell, & Lu, 2005). Přechod mezi bdělým stavem a spánkem je umožněn pomocí tzv. flip-flop přepínání. Celý systém je založen na vzájemné inhibici dvou center. Ventrolaterální preoptická jádra (VLPO) obsahující GABAergní a galaninergní neurony jsou aktivní během spánku (Sherin *et al.*, 1996; Sherin *et al.*, 1998). VLPO jsou spojena s laterálním hypotalamem a mozkovým kmenem, které jsou aktivní

během bdění (Sherin *et al.*, 1996). Posteriolaterální část hypotalamu obsahuje orexin/hypokretinové neurony, které jsou rozhodující pro udržení normálního stavu bdění. Vzájemnou inhibicí obou center, jejichž načasování je řízeno z SCN, lze přepínat mezi spánkem a bděním. Neexistuje tedy žádné přechodné stádium mezi bdělostí a spánkem (Saper *et al.*, 2001).

V případě poškození VLPO dochází ke snížení počtu NREM fází, což má za následek častější procitání během noci a kratší spánek (Lu *et al.*, 2000). Během dne jsou neurony VLPO inhibovány noradrenalinem a acetylcholinem (Gallopín *et al.*, 2000).

Z výše uvedeného je zjevné, že cirkadiánní oscilátor je velmi důležitý pro regulaci spánkových cyklů. V případě jeho desynchronizace s časovou fází vnějšího okolí, může docházet k poruchám spánku. Nejčastějšími příčinami této desynchronizace jsou práce na směny (Åkerstedt, 2003). Dalším typickým příkladem jsou přelety přes časová pásma, kdy může dojít k tzv. pásmové nemoci, neboli jet lagu (Jamieson *et al.*, 2001).

### 3.3.5 Spánek a chronotyp

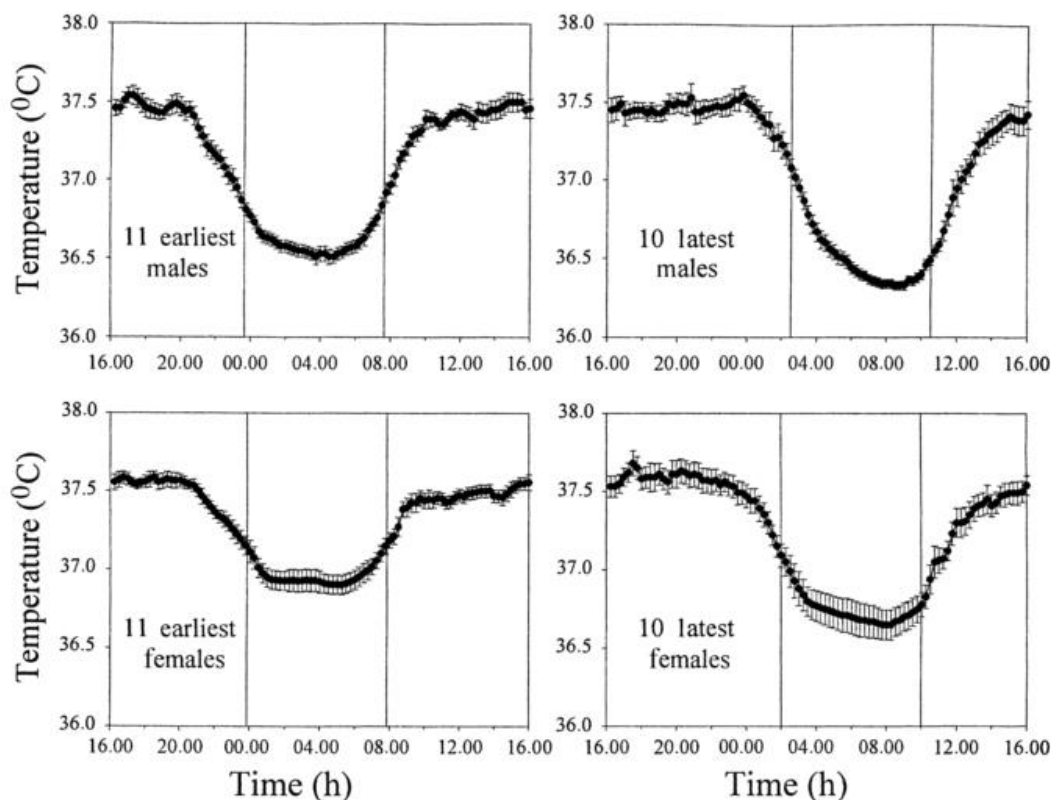
Ranní chronotyp je typický svým časnějším probouzením, ale i dřívějším usínáním. Večerní chronotypy naopak mají tendenci vstávat později a usínat v pozdních nočních hodinách. Čas probouzení a usínání ranních a večerních chronotypů dělí od sebe cca 2 hodiny.

Ranní typy jsou více a lépe probuzeni a více aktivní záhy po probuzení, na rozdíl od večerních chronotypů. Celková doba strávená v posteli je také delší u večerních typů, než u ranních (Carrier *et al.*, 1997).

Podle studie z roku 2008, která byla zaměřena na vliv sociálního zeitgeberu na cyklus bdění-spánek u různých chronotypů, má sociální synchronizace na „skřivany“ a „sovy“ jiný dopad; během dnů volna se u obou typů prodloužila doba spánku. Jelikož společnost je nastavena spíše k ranním preferencím, večerní chronotypy vykazovaly větší rozdíl mezi jejich spánkovými preferencemi ve dnech volna a v pracovních dnech. To může významně přispět k nahromadění spánkového dluhu a tím může být večerní chronotyp více ohrožen sociálním jet lagem. Zároveň se zjistilo, že spánek ranních chronotypů je v průběhu pracovního týdne delší, než spánek večerních chronotypů. V kombinaci s většími spánkovými deprivacemi večerních chronotypů během pracovního týdne může být toto důvod, proč jsou večerní typy spojovány s vyšší vlastní subjektivní potřebou delšího spánku (Korczak *et al.*, 2008).

Jak bylo zmíněno výše, sociální faktory mají vliv na kvalitu a samotný průběh cirkadiánních rytmů každého jedince. Nesoulad sociálních faktorů s potřebami jednotlivce může vést i v nepříliš extrémních případech k desynchronizaci cirkadiánních rytmů. Následkem toho může dojít k rozvoji mnoha onemocnění, od poruch spánku až k chorobám metabolického a i kardiovaskulárního charakteru (Faith *et al.*, 2012; Sack *et al.*, 2007). Typicky večerní chronotypy usínají pozdě v noci, ale vstávají brzo ráno kvůli práci či rodinným povinnostem. Vstávají mimo periodu přirozeně stanovenou svým nastavením cirkadiánního systému a hromadí si tak velký spánkový deficit. Tento „sociální jet lag“ je hojně rozšířen v současné společnosti. Večerní chronotypy trpí větší mírou ospalosti. Subjektivní ospalost je považována za sociálně profesní handicap a je i spojována s vyšší pravděpodobností úrazů (Wittmann *et al.*, 2006; Roenneberg *et al.*, 2012).

Během spánku dosahuje tělesná teplota svého denního minima, ovšem každý z chronotypů jej dosahuje v jiné části spánku. Průměrná minimální tělesná teplota u ranních chronotypů nastává ve 3.50 h. U nevyhrazeného chronotypu byla naměřena v 5.02 h, v 6.01 h u večerního chronotypu (Baehr *et al.*, 2000). Minimální tělesná teplota je přibližně v prostředku 8 hodinového spánku, ale u večerních chronotypů je minimální teploty dosaženo o něco blíže k času probuzení (Duffy *et al.*, 1999; Baehr *et al.*, 2000). Čím blíže se minimum tělní teploty blíží k času probuzení, tím výraznější je projev večerního chronotypu (obr. 5). Večerní typy tedy chodí spát dříve v porovnání ke svému teplotnímu cyklu než ranní chronotypy. Jsou nuceni chodit spát v době, kdy je jejich tělesná teplota ještě relativně vysoká a naopak musí vstávat v době, kdy jejich tělesná teplota ještě dostatečně nestoupá. Tento rozdíl může vysvětlovat, proč večerní typy jsou večer více aktivní a po probuzení jsou déle unaveni a přetrvává u nich déle ospalost než u ranního chronotypu. Byl nalezen i rozdíl v amplitudě rytmu teploty těla mezi jednotlivými chronotypy. U večerních typů byl vyšší amplituda periody tělesné teploty, než u ranních chronotypů (Baehr *et al.*, 2000; Kerkhof & Van Dongen, 1996).



**Obrázek 5:** Křivky vývoje tělesné teploty u 22 mužů a žen s nejdříve dosaženým minimem tělesné teploty a u 20 mužů a žen s nejpozději dosaženým minimem tělesné teploty během noci. Vertikální čáry ohraničují průměrnou dobu spánku jednotlivých chronotypů (Baehr *et al.*, 2000).

Různý chronotyp má také vliv na homeostatický proces regulace spánku. Proces S, který vytváří tlak na spánek, je u ranních a večerních typů jiný. Pravděpodobně je úzká souvislost mezi nahromaděním ospalosti a nárůstem PTAF (z angl. "power in theta-alpha frequencies", 6–9 Hz). Tlak na spánek během bdělosti v pracovní dny stoupá postupně, u ranních typů po 11,5 h bdělosti, ovšem stejných hodnot večerní typy dosahují již za 5,5 h bdělosti. Tlak na spánek při prodloužené bdělosti roste ovšem pomaleji u večerních typů než u ranních. Křivka nárůstu PTAF je u obou typů exponenciální, ovšem déle a pozvolněji stoupá u večerních typů, než dosáhly stejné hodnoty. Což může také vysvětlovat, proč večerní typy mají menší problém s noční prací (Taillard *et al.*, 2003).

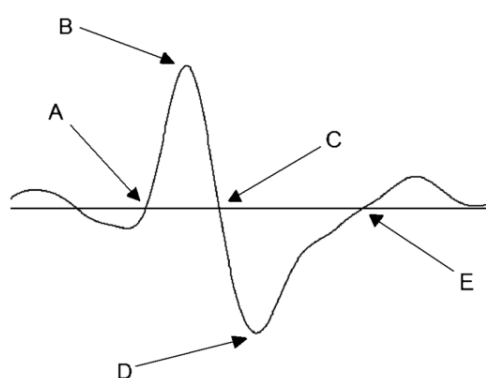
Chronotypy se mohou lišit také ve svých spánkových cyklech, jejich fázi i amplitudě. Ranní chronotypy začínaly svůj spánek s vyšší absolutní SWA hladinou než večerní. Exponenciální pokles relativních hodnot SWA v NREM spánku byl rychlejší u ranních než večerních typů (Mongrain *et al.*, 2005). Vyšší počáteční hodnota SWA u ranních typů má souvislost s rychlejším vzestupem homeostatického tlaku na spánek před usínáním. V NREM spánku ranní typy mají prudší nárůst aktivity v nízkých sigma

vlnách s frekvencí 13-14 Hz než večerní typy (Mongrain *et al.*, 2006b) .

V REM spánku, ranní chronotypy vykazovaly prudší pokles aktivity vysoký sigma vln (14-16 Hz) a beta vln (16-24 Hz) než večerní. Tyto výsledky jasně zaznamenávají rozdíl v homeostatické regulaci spánku u ranních a večerních typů (Mongrain *et al.*, 2006b).

Existují rozdíly v průběhu amplitudy pomalých vln (SW) u jednotlivých chronotypů (obr. 6). Hustota SW za minutu byla u obou chronotypů stejná. Z toho je patrné, že ranní i večerní typy mají stejnou kapacitu ke generování SW (Mongrain *et al.*, 2011).

Ranní typy měly vyšší amplitudu SW a vykazovaly prudší sklon křivky SW než večerní typy během první části spánku, kdy je vyvíjen vysoký homeostatický tlak na spánek. Výraznější vzestup SWA po vzestupu spánkového tlaku u ranních než u večerních typů pochází ze specifického prudšího sklonu SW křivky u ranních typů. Tím pádem SW sklon křivky může být považován za další marker spánkové homeostáze (Riedner *et al.*, 2007). SW sklon mezi pozitivním a negativním vrcholem SW reprezentuje synchronizaci kortikálních neuronů. Čím prudší sklon, tím synchronizovanější nástup aktivity těchto neuronů (Vyazovskiy *et al.*, 2009). Lepší synchronizace pravděpodobně pochází ze zvýšené synaptické aktivity. Také z toho vyplývá, že vyšší homeostatický tlak na spánek značí vyšší synchronizovanost kortikálních neuronů. Výsledky poukazují na rychlejší dynamiku SWS u ranních typů (Mongrain *et al.*, 2011).



**Obrázek 6:** Schématické znázornění SW křivky. SW amplituda je počítána jako rozdíl mezi negativním vrcholem B a pozitivním vrcholem D, vyjádřen v  $\mu\text{V}$ . SW frekvence je počet cyklů za minutu (A-E). SW délka negativního vrcholu je počet sekund mezi A-C, délka pozitivního vrcholu počet sekund mezi C-E. SW sklon křivky je rychlost změny mezi negativním a pozitivním vrcholem, vyjádřen v  $\mu\text{V/s}$ . Podle (Mongrain *et al.*, 2011)

Ranní a večerní typy byly vždy spojovány s jejich rozdílností v cirkadiánní fázi. Nicméně nedávno byly identifikovány ranní a večerní typy s podobnou, střední cirkadiánní fází. Ranní typy se střední cirkadiánní fází ovšem měly kratší fázový rozdíl mezi vzestupem melatoninu za šera (dim light melatonin onset, DLMO) a probuzením v porovnání s večerními typy s podobnou cirkadiánní fází, kteří vykazovaly i kratší dobu spánku (Mongrain *et al.*, 2004).

V další studii porovnávali pokles aktivity SWA s NREM spánkem u těchto chronotypů s podobnou a rozdílnou (extrémní) cirkadiánní fází k testování hypotézy, že dynamika nočního homeostatického tlaku na spánek má za následek rozdílné spánkové preference. Preferovaný čas probuzení koreloval s SWA parametry u chronotypů se střední cirkadiánní fází, ovšem s extrémně brzkým nebo pozdním DLMO. Tyto výsledky naznačují, že jak homeostatická nebo cirkadiánní regulace spánku může vést k ranním a večerním preferencím (Mongrain *et al.*, 2006a).

Ovšem vztah mezi chronotypy, cirkadiánními rytmy a spánkovým cyklem je více komplexní a také se v průběhu života mění. U ranních typů se vyskytuje dřívější cirkadiánní fáze melatoninu a tělesné teploty v porovnání s večerními, ovšem interval mezi cirkadiánní fází melatoninu a bdělostí je delší u ranních než u večerních typů. To znamená, že ačkoliv se večerní typy probouzejí později, ranní typy vstávají v pozdější fázi cirkadiánního rytmu (Duffy *et al.*, 1999).

### **3.4 Změna chronotypu během vývoje člověka**

Chronotyp se v průběhu života mění. U více než poloviny batolat je pozorován ranní chronotyp, v ostatních případech se vyskytuje nevyhrazený chronotyp. Večerní preference se v batolecím věku prakticky nevyskytuje (Simpkin *et al.*, 2014). U předškolních a školních dětí se již vyskytují všechny chronotypy. U dětí s večerní preferencí se již začínají objevovat výraznější rozdíly ve spánku během školních dnů a víkendů, kdy spí déle a snaží se dohnat spánkový dluh nasbíraný během týdne. Večerní typy jsou již i během dne více ospalý (Russo *et al.*, 2007).

Adolescenti ve věku 12- 17 let mají vyšší tendenci být večerními typy a s přibývajícím věkem v tomto rozmezí se stávají extrémnějšími večerními chronotypy. Proto se může dosažení večerního typu považovat za biologický marker konce adolescence (Roenneberg *et al.*, 2004). Tento fenomén je spojován s pubertálním

vývojem, ale je také ovlivněn sociálními a rodinnými faktory. Mezi takové faktory patří např.: školní docházka, nebo rodičovská kontrola (Gau & Soong, 2003).

V dospělé fázi života a s přibývajícím věkem přibývá i podíl ranních chronotypů (Park *et al.*, 2002). Jak jedinec stárne, má tendenci vstávat a chodit spát dříve a vykazovat větší aktivitu v dřívějších hodinách. Významné prohloubení tohoto trendu v populaci můžeme pozorovat zvláště ve skupině nad 50 let (Mongrain *et al.*, 2004; Taillard *et al.*, 2011).

Byl pozorován zajímavý vztah mezi výskytem ranního a večerního chronotypu na datu narození. Narození mezi dubnem a zářím jsou mnohem vzácněji ranní chronotypy, než narození mezi říjnem a březnem. To naznačuje, že na formování chronotypu může mít vliv intenzita světla a jeho délka během dne v době narození (Natale *et al.*, 2002).

### **3.5 Rozdíly v chronotypech podle pohlaví**

Možnost, že diurnální preference jsou závislé na pohlaví, naznačuje několik studií. Populační studie ukazují, že větší část večerních chronotypů v populaci představují muži, naopak větší část ranních typů představují ženy (Randler, 2011; Roenneberg *et al.*, 2004; Adan & Natale, 2002). S tím souvisí také nálezy, že vnitřní cirkadiánní perioda je v populaci signifikantně kratší u žen než u mužů a větší procento žen než mužů může mít vnitřní periodu kratší než 24 hodin (Duffy *et al.*, 2011).



## 4 Závěr

Ranní chronotypy jsou charakteristické svým časnějším probouzením i usínáním. Večerní chronotypy mají naopak tendenci vstávat později a usínat v pozdních nočních hodinách. Důvodem těchto odlišných tendencí jsou rozdíly v cirkadiánním systému, v expresi hodinových genů, odlišnosti v regulaci produkce hormonů kortisolu a melatoninu a v neposlední řadě i rozdílná regulace spánku. V rámci této práce jsem se pokusila popsat a shrnout právě tyto fyziologické rozdíly, patrné mezi ranními a večerními chronotypy.

Pro ranní chronotyp je typická dřívější akrofáze jak kortisolu, tak melatoninu, které se podílejí právě na regulaci spánku. Další charakteristikou ranního chronotypu je dřívější dosažení tělesného teplotního minima v průběhu spánku. Večerní chronotyp má naopak akrofázi kortisolu a melatoninu, stejně jako dosažení teplotního tělesného minima, oproti rannímu a středovému chronotypu relativně fázově opožděnou. To ovšem není jediným rozdílem mezi chronotypy. Jako další lze uvést rozdílnost ve spánkových cyklech, konkrétně v jejich fázi i amplitudě. Jasně odlišnosti jsou patrné ve stavbě REM a NREM spánku, SW vlnách a aktivitě, což jsou také základní znaky, podle kterých jednotlivé chronotypy můžeme rozlišovat.

Chronotypy jsou determinovány především cirkadiánním systémem, který je regulován pomocí hodinových genů. U hodinových genů, jako jsou *Clock*, *Per1,2,3* a *Cry1,2*, byly nalezeny genetické polymorfismy, které mají za následek rozdílnou expresi genů a vedou k jejich posunu vůči okolí. Výsledkem je různé načasování spánku u jednotlivých chronotypů.

Zařazení ke chronotypu není u člověka zcela neměnné. Chronotyp podléhá v průběhu života změnám. Většina lidí se rodí s projevy ranního chronotypu a až v průběhu dětství dochází k projevu celého spektra chronotypů. K nejextrémnějšímu projevu večerního chronotypu dochází v pubertě a na počátku dospělosti. Mezi zástupci pubertálního věku večerní chronotyp výrazně převládá. V průběhu dospělého života se potom zpětně zvyšuje podíl ranních chronotypů, a řady ranních „skřivanů“ se v rámci generace opět rozšiřují.

Fungování dnešní společnosti přináší ranním chronotypům výhody. Večerní chronotypy v průběhu života trpí většími spánkovými deprivacemi, které mohou

v dlouhodobém důsledku vést až ke zdravotním problémům. Celá problematika cirkadiálních rytmů by tak rozhodně měla setrvat ve středu pozornosti nejen kvůli svému dopadu na životní styl a zdraví jedince (a potažmo i populace) ale i kvůli porozumění biologické rytmicitě jako takové.

## 5 Literatura

- Adan, A., & Natale, V. (2002). Gender Differences in Morningness–Eveningness Preference. *Chronobiology International*, 19(4), 709–720.
- Achermann, P., & Borbély, A. a. (1999). Sleep Homeostasis and Models of Sleep Regulation. *Journal of Biological Rhythms*, 559–568.
- Akashi, M., & Takumi, T. (2005). The orphan nuclear receptor RORalpha regulates circadian transcription of the mammalian core-clock Bmal1. *Nature Structural & Molecular Biology*, 12(5), 441–448.
- Åkerstedt, T. (2003). Shift work and disturbed sleep/wakefulness. *Occupational Medicine*, 53(2), 89–94.
- Arendt, J., Aldhous, M., & Marks, V. (1986). Alleviation of jet lag by melatonin: preliminary results of controlled double blind trial. *British Medical Journal (Clinical Research Ed.)*, 292(6529), 1170.
- Archer, S. N., Robilliard, D. L., Skene, D. J., Smits, M., Williams, A., Arendt, J., & von Schantz, M. (2003). A length polymorphism in the circadian clock gene Per3 is linked to delayed sleep phase syndrome and extreme diurnal preference. *Sleep*, 26(4), 413–415.
- Axelrod, J. (1974). The pineal gland: a neurochemical transducer. *Science*, 184(June), 1341–1348.
- Baehr, E. K., Revelle, W., & Eastman, C. I. (2000). Individual differences in the phase and amplitude of the human circadian temperature rhythm: With an emphasis on morningness-eveningness. *Journal of Sleep Research*, 9(2), 117–127.
- Bailey, S. L., & Heitkemper, M. M. (2001). Circadian Rhythmicity of Cortisol and Body Temperature: Morningness-Eveningness Effects. *Chronobiology International*, 18(2), 249–261.
- Balsalobre, A. (2002). Clock genes in mammalian peripheral tissues. *Cell and Tissue Research*, 309(1), 193-199.
- Barclay, N. L., Eley, T. C., Mill, J., Wong, C. C. Y., Zavos, H. M. S., Archer, S. N., & Gregory, A. M. (2011). Sleep quality and diurnal preference in a sample of young adults: Associations with 5HTTLPR, PER3, and CLOCK 3111. *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 156(6), 681–690.
- Benloucif, S. (2005). Stability of Melatonin and Temperature as Circadian Phase Markers and Their Relation to Sleep Times in Humans. *Journal of Biological Rhythms*, 20(2), 178–188.
- Bernard, S., Gonze, D., Čajavec, B., Herzog, H., & Kramer, A. (2007). Synchronization-induced rhythmicity of circadian oscillators in the suprachiasmatic nucleus. *PLoS Computational Biology*, 3(4), 667–679.
- Carpen, J. D., Archer, S. N., Skene, D. J., Smits, M., & Von Schantz, M. (2005). A single-nucleotide polymorphism in the 5'-untranslated region of the hPER2 gene is associated with diurnal preference. *Journal of Sleep Research*, 14(3), 293–297.

- Carpen, J. D., Von Schantz, M., Smits, M., Skene, D. J., & Archer, S. N. (2006). A silent polymorphism in the PER1 gene associates with extreme diurnal preference in humans. *Journal of Human Genetics*, *51*(12), 1122–1125.
- Carrier, J., Monk, T. H., Buysse, D. J., & Kupfer, D. J. (1997). Sleep and morningness-eveningness in the “middle” years of life (20-59 y). *Journal of Sleep Research*, *6*(4), 230–237.
- Carskadon, M. A., & Dement, W. C. (2011). Chapter 2 – Normal Human Sleep: An Overview. *Principles and Practice of Sleep Medicine: Fifth Edition*, 1602–1609.
- Carskadon, M. a., & Rechtschaffen, A. (2000). Monitoring and staging human sleep. *Principles and Practice of Sleep Medicine*, *3*, 1359-1377.
- Daan, S., Beersma, D. G. M., & Borbély, A. A. (1984). Timing of human sleep: recovery process gated by a circadian pacemaker. *The American Journal of Physiology*, *246*, 61–83.
- Dijk, D. J., Duffy, J. F., Kiel, E., Shanahan, T. L., & Czeisler, C. a. (1999). Ageing and the circadian and homeostatic regulation of human sleep during forced desynchrony of rest, melatonin and temperature rhythms. *Journal of Physiology*, *516*(2), 611–627.
- Duffy, J. F., Cain, S. W., Chang, A.-M., Phillips, a. J. K., Munch, M. Y., Gronfier, C., ... Czeisler, C. a. (2011). Sex difference in the near-24-hour intrinsic period of the human circadian timing system. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *108*(Supplement\_3), 15602–15608.
- Duffy, J. F., Dijk, D. J., Hall, E. F., & Czeisler, C. A. (1999). Relationship of endogenous circadian melatonin and temperature rhythms to self-reported preference for morning or evening activity in young and older people. *J Investig Med*, *47*(3), 141–150.
- Faith S. Luyster, P., ; Patrick J. Strollo Jr., M., & ; Phyllis C. Zee, MD, PhD; James K. Walsh, P. (2012). Sleep: A Health Imperative, *Sleep*, *36*(8), 727-734.
- Gallopín, T., Patrice, F., Eggermann, E., Cauli, B., Luppi, P.-H., & Rossier, J. (2000). Identification of sleep-promoting neurons in vitro, *Nature*, *404*, 992–998.
- Gao, B., Fritschy, J. M., & Moore, R. Y. (1995). GABAA-receptor subunit composition in the circadian timing system. *Brain Research*, *700*(1-2), 142–156.
- Gau, S.-F., & Soong, W.-T. (2003). The transition of sleep-wake patterns in early adolescence. *Sleep: Journal of Sleep and Sleep Disorders Research*, *26*(4), 449–454.
- Gehring, W., & Rosbash, M. (2003). The Coevolution of Blue-Light Photoreception and Circadian Rhythms. *Journal of Molecular Evolution*, *57*(SUPPL. 1), 286–289.
- Gekakis, N., Staknis, D., Nguyen, H., Davis, F., Wilsbacher, L., King, D., Weitz, C. (1998). Role of the CLOCK protein in the mammalian circadian mechanism, *Science*, *280*(5369), 1564–1569.
- Gibertini, M., Graham, C., & Cook, M. R. (1999). Self-report of circadian type reflects the phase of the melatonin rhythm. *Biological Psychology*, *50*(1), 19–33.
- Goel, N., Basner, M., Rao, H., & Dinges, D. F. (2013). Circadian Rhythms, Sleep Deprivation,

- and Human Performance. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 119, 155–190.
- Golombek, D. a, & Rosenstein, R. E. (2010). Physiology of Circadian Entrainment. *Physiology Rev*, 90(3), 1063–1102.
- Granados-Fuentes, D., Saxena, M. T., Prolo, La. M., Aton, S. J., & Herzog, E. D. (2004). Olfactory bulb neurons express functional, entrainable circadian rhythms. *European Journal of Neuroscience*, 19, 898–906.
- Horne, J. A., & Ostberg, O. (1976). A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *Internacional Journal of Chronobiology*, 4(2), 97–110.
- 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: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(33), 10691–702.
- Illnerová, H., & Vaněček, J. (1988). Entrainment of the rat pineal rhythm in melatonin production by light. *Reproduction Nutrition Development*, 28, 515–526.
- Jamieson, A. O., Zammit, G. K., Rosenberg, R. S., Davis, J. R., & Walsh, J. K. (2001). Zolpidem reduces the sleep disturbance of jet lag. *Sleep Medicine*, 2(5), 423–430.
- Jin, X., Shearman, L. P., Weaver, D. R., Zylka, M. J., De Vries, G. J., & Reppert, S. M. (1999). A molecular mechanism regulating rhythmic output from the suprachiasmatic circadian clock. *Cell*, 96, 57–68.
- Jones, K. H. S., Ellis, J., Von Schantz, M., Skene, D. J., Dijk, D. J., & Archer, S. N. (2007). Age-related change in the association between a polymorphism in the PER3 gene and preferred timing of sleep and waking activities. *Journal of Sleep Research*, 16(1), 12–16.
- Katzenberg, D., Young, T., Finn, L., Lin, L., King, D. P., Takahashi, J. S., & Mignot, E. (1998). A CLOCK polymorphism associated with human diurnal preference. *Sleep*, 21(6), 569–576.
- Kerkhof, G. A., & Van Dongen, H. P. A. (1996). Morning-type and evening-type individuals differ in the phase position of their endogenous circadian oscillator. *Neuroscience Letters*, 218(3), 153–156.
- Klein, D., Moore, R., R. & Reppert, S. (1991). *Suprachiasmatic Nucleus: The Mind's Clock*. New York: Oxford University Press, Inc.
- Ko, C. H., & Takahashi, J. S. (2006). Molecular components of the mammalian circadian clock. *Human Molecular Genetics*, 15(SUPPL. 2), 271–277.
- Korczak, A. L., Martynhak, B. J., Pedrazzoli, M., Brito, A. F., & Louzada, F. M. (2008). Influence of chronotype and social zeitgebers on sleep/wake patterns. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 41(10), 914–919.
- Lack, L., Bailey, M., Lovato, N., & Wright, H. (2009). Chronotype differences in circadian rhythms of temperature, melatonin, and sleepiness as measured in a modified constant routine protocol., *Nature and Science of Sleep*, 1–8.

- Lerner, A. B., Case, J. D., Takahashi, Y., Lee, T. H., & Mori, W. (1958). Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *Journal of the American Chemical Society*, *80*(10), 2587.
- LeSauter, J., & Silver, R. (1999). Localization of a suprachiasmatic nucleus subregion regulating locomotor rhythmicity. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *19*(13), 5574–85.
- Levine, J. D., Weiss, M. L., Rosenwasser, A. M., & Miselis, R. R. (1991). Retinohypothalamic Tract in the Female Albino Rat: A Study Using Horseradish Peroxidase Conjugated to Cholera Toxin. *The Journal of Comparative Neurology*, *360*, 344–360.
- Lu, J., Greco, M. a, Shiromani, P., & Saper, C. B. (2000). Effect of lesions of the ventrolateral preoptic nucleus on NREM and REM sleep. *The Journal of Neuroscience*, *20*(10), 3830–42.
- Magri, F., Sarra, S., Cinchetti, W., Guazzoni, V., Fioravanti, M., Cravello, L., & Ferrari, E. (2004). Qualitative and quantitative changes of melatonin levels in physiological and pathological aging and in centenarians. *Journal of Pineal Research*, *36*(4), 256–261.
- Man Park, Y., Matsumoto, K., Jin Seo, Y., Jeung Kang, M., & Nagashima, H. (2002). Effects of Age and Gender on Sleep Habits and Sleep Trouble for Aged People. *Biological Rhythm Research*, *33*(1), 039.
- Moga, M. M., & Moore, R. Y. (1997). Organization of neural inputs to the suprachiasmatic nucleus in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, *389*(3), 508–534.
- Mongrain, V., Carrier, J., & Dumont, M. (2006a). Circadian and homeostatic sleep regulation in morningness – eveningness. *Journal of Sleep Research*, *15*, 162–166.
- Mongrain, V., Carrier, J., Paquet, J., Belanger-Nelson, E., & Dumont, M. (2011). Morning and evening-type differences in slow waves during NREM sleep reveal both trait and state-dependent phenotypes. *PLoS ONE*, *6*(8), 9–12.
- Mongrain, V., Carrier, J., & Dumont, M. (2006b). Difference in sleep regulation between morning and evening circadian types as indexed by antero-posterior analyses of the sleep EEG. *European Journal of Neuroscience*, *23*(2), 497–504.
- Mongrain, V., Lavoie, S., Selmaoui, B., Paquet, J., & Dumont, M. (2004). Phase relationships between sleep-wake cycle and underlying circadian rhythms in Morningness-Eveningness. *Journal of Biological Rhythms*, *19*(3), 248–257.
- Mongrain, V., Carrier, J., & Dumont, M. (2005). Chronotype and sex effects on sleep architecture and quantitative sleep EEG in healthy young adults. *Sleep: Journal of Sleep and Sleep Disorders Research*, *28*(7), 819–827.
- Moore, R. Y., Speh, J. C., & Leak, R. K. (2002). Suprachiasmatic nucleus organization. *Cell and Tissue Research*, *309*(1), 89–98.
- Natale, V., Adan, A., & Chotai, J. (2002). Further results on the association between morningness-eveningness preference and the season of the birth in human adults, *Neuropsychobiology*, *46*, 209–214.

- Oginska, H., Fafrowicz, M., Golonka, K., Marek, T., Mojsa-Kaja, J., & Tucholska, K. (2010). Chronotype, Sleep Loss, and Diurnal Pattern of Salivary Cortisol in a Simulated Daylong Driving. *Chronobiology International*, *27*(5), 959–974.
- Pévet, P., Agez, L., Bothorel, B., Saboureau, M., Gauer, F., Laurent, V., & Masson-Pévet, M. (2006). Melatonin in the multi-oscillatory mammalian circadian world. *Chronobiology International*, *23*(1-2), 39–51.
- Preitner, N., Damiola, F., Luis-Lopez-Molina, Zakany, J., Duboule, D., Albrecht, U., & Schibler, U. (2002). The orphan nuclear receptor REV-ERB $\alpha$  controls circadian transcription within the positive limb of the mammalian circadian oscillator. *Cell*, *110*(2), 251–260.
- Rajaratnam, S. M. W., & Arendt, J. (2001). Health in a 24-h society. *Lancet*, *358*(9286), 999–1005.
- Ralph, M. R., Foster, R. G., Davis, F., & Menaker, M. (1990). Transplanted Suprachiasmatic Nucleus Determines Circadian Period. *Nature, Science*, 975–978.
- Ralph, M. R., & Menaker, M. (1988). A Mutation of the Circadian System in Golden Hamsters. *Science*, *241*, 1225–1227.
- Randler, C. (2011). Age and Gender Differences in Morningness–Eveningness During Adolescence. *The Journal of Genetic Psychology*, *172*(3), 302–308.
- Rechtschaffen, A., & Kales, A. (1969). A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects.
- Riedner, B. A., Vyazovskiy, V. V., Huber, R., Massimini, M., Esser, S., Murphy, M., & Tononi, G. (2007). Sleep homeostasis and cortical synchronization: III. A high-density EEG study of sleep slow waves in humans. *Sleep*, *30*(12), 1643–57.
- Roenneberg, T., Allebrandt, K. V., Merrow, M., & Vetter, C. (2012). Social jetlag and obesity. *Current Biology*, *22*(10), 939–943.
- Roenneberg, T., Kuehne, T., Pramstaller, P. P., Ricken, J., Havel, M., Guth, A., & Merrow, M. (2004). A marker for the end of adolescence. *Current Biology*, *14*(24), 1038–1039.
- Roenneberg, T., Wirz-Justice, A., & Merrow, M. (2003). Life between clocks: daily temporal patterns of human chronotypes. *Journal of Biological Rhythms*, *18*(1), 80–90.
- Rogers, N. L., Dorrian, J., & Dinges, D. F. (2003). Sleep, waking and neurobehavioural performance. *Frontiers in Bioscience : A Journal and Virtual Library*, *8*, s1056–s1067.
- Russo, P. M., Bruni, O., Lucidi, F., Ferri, R., & Violani, C. (2007). Sleep habits and circadian preference in Italian children and adolescents. *Journal of Sleep Research*, *16*(2), 163–169.
- Sack, R. L., Auckley, D., Auger, R. R., Carskadon, M. a, Wright, K. P., Vitiello, M. V, & Zhdanova, I. V. (2007). Circadian rhythm sleep disorders: part I, basic principles, shift work and jet lag disorders. An American Academy of Sleep Medicine review. *Sleep*, *30*(11), 1460–1483.

- Saper, C. B., Chou, T. C., & Scammell, T. E. (2001). The sleep switch: Hypothalamic control of sleep and wakefulness. *Trends in Neurosciences*, *24*(12), 726–731.
- Saper, C. B., Scammell, T. E., & Lu, J. (2005). Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. *Nature*, *437*(7063), 1257–1263.
- Sato, T. K., Panda, S., Miraglia, L. J., Reyes, T. M., Rudic, R. D., McNamara, P., ... Hogenesch, J. B. (2004). A functional genomics strategy reveals *rora* as a component of the mammalian circadian clock. *Neuron*, *43*(4), 527–537.
- Sharkey, K. M., Fogg, L. F., & Eastman, C. I. (2001). Effects of melatonin administration on daytime sleep after simulated night shift work. *Journal of Sleep Research*, *10*(3), 181–192.
- Sherin, J. E., Elmquist, J. K., Torrealba, F., & Saper, C. B. (1998). Innervation of histaminergic tuberomammillary neurons by GABAergic and galaninergic neurons in the ventrolateral preoptic nucleus of the rat. *Journal of Neuroscience*, *18*(12), 4705–4721.
- Sherin, P. J., Shiromani, R. W., McCarley, C., & Saper, C. B. (1996). Activation of Ventrolateral Preoptic Neurons During Sleep. *Science*, *271*(5246), 216–19.
- Simpkin, C. T., Jenni, O. G., Carskadon, M. A., Wright, K. P., Akacem, L. D., Garlo, K. G., & Lebourgeois, M. K. (2014). Chronotype is associated with the timing of the circadian clock and sleep in toddlers. *Journal of Sleep Research*, *23*(4), 397–405.
- Taillard, J., Philip, P., Coste, O., Sagaspe, P., & Bioulac, B. (2003). The circadian and homeostatic modulation of sleep pressure during wakefulness differs between morning and evening chronotypes. *Journal of Sleep Research*, *12*(4), 275–282.
- Taillard, J., Philip, P., Claustrat, B., Capelli, A., Coste, O., Chaumet, G., & Sagaspe, P. (2011). Time course of neurobehavioral alertness during extended wakefulness in morning- and evening-type healthy sleepers. *Chronobiol Int*, *28*(6), 520–527.
- Torsvall, L., & Akerstedt, T. (1980). A diurnal type scale. Construction consistency and validation in shift work. *Scandinavian Journal of Work, Environment and Health*, *6*(4), 283–290.
- Tosini, G., & Menaker, M. (1996). Circadian Rhythms in Cultured Mammalian Retina. *Science*, *272*, 419–421.
- Van Dongen, H. P. a, & Dinges, D. F. (2003). Investigating the interaction between the homeostatic and circadian processes of sleep-wake regulation for the prediction of waking neurobehavioural performance. *Journal of Sleep Research*, *12*(3), 181–187.
- Vyazovskiy, V. V., Olcese, U., Lazimy, Y. M., Faraguna, U., Esser, S. K., Williams, J. C., Tononi, G. (2009). Cortical Firing and Sleep Homeostasis. *Neuron*, *63*(6), 865–878.
- Wittmann, M., Dinich, J., Meroz, M., & Roenneberg, T. (2006). Social jetlag: misalignment of biological and social time. *Chronobiology International*, *23*(1-2), 497–509.
- Yamazaki, S. (2011). Resetting Central and Peripheral Circadian Oscillators in Transgenic Rats, *682*(2000), 682–685.



Yoo, S.-H., Yamazaki, S., Lowrey, P. L., & Shimomura, K. (2004). *Period2::Luciferase Real-Time Reporting of Circadian Dynamics Reveals Persistent Circadian Oscillations in Mouse Peripheral Tissues. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 101, 5339–5346.*