

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Katedra fyziologie živočichů

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Bakalářská práce

Cirkadiánní systém a paměť
Circadian system and memory

Kateřina Skálová

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

Praha, 2016

Poděkování:

Chtěla bych poděkovat své školitelce Doc. RNDr. Zdeňce Bendové, Ph.D. za nesmírnou ochotu, trpělivost a cenné rady. Stejně velké poděkování patří kolektivu laboratoře biorytmů na katedře fyziologie PřFUK za jejich velkou ochotu a podporu. Další poděkování také chci věnovat mé rodině, příteli a blízkému okruhu přátel za velkou podporu a povzbuzování.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou bakalářskou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu.

V Praze dne 19. 08. 2016

Abstrakt

Cirkadiální systém je součástí všech živých organismů, řídí správné načasování jejich fyziologických funkcí a chování. Podstatu tvoří molekulární mechanismus propojených transkripčně-translačních zpětnovazebných smyček hodinových genů a jejich proteinových produktů. Řídící strukturou tohoto systému jsou u savců suprachiasmatická jádra hypotalamu. Paměť, jedna z nejdůležitějších schopností organismu, vytvářet a uchovávat poznatky, je s cirkadiálním systémem také spjata. Paměť i cirkadiální systém umožňují přizpůsobení měnícím se podmínkám okolí. Ve strukturách mozku, podílejících se na zprostředkování paměti, jako hipokampus, amygdala a bazální ganglia, byla detekována exprese hodinových genů. Oscilace těchto hodinových genů ovlivňují utváření i vyvolávání paměťových stop. Cílem této práce je shrnout dosavadní poznatky o vzájemném vztahu mezi pamětí a cirkadiálním systémem.

Klíčová slova: cirkadiální systém, paměť, hodinové geny, suprachiasmatické jádro, hipokampus

Abstract

Circadian system is a part of all living organisms. It controls suitable timing of their physiological functions and behaviour. The molecular mechanism of interlocking transcription-translational feedback loops of clock genes and their protein products forms the core of the circadian system. The main structures of this system in mammalian organisms are suprachiasmatic nuclei of the hypothalamus. Memory is also closely connected with circadian system. It is one of the most important abilities of organism for creating knowledge. Both memory and circadian system enable to the organism to adapt to changes in its external environment. The expression of clock genes was detected in brain structures involved in mediation of memory such as hippocampus, amygdale and basal ganglia. The oscillations of these clock genes influence the formation and retrieval of memory traces. The aim of this work is to summarize current knowledge about the relationship between the memory and the circadian system.

Key words: circadian system, memory, clock genes, suprachiasmatic nuclei, hippocampus

Seznam zkratek

5HT	Serotonin
Angiotensin II	Angiotensin II
AC	Adenylátcykláza
AMPA	α -amino-3hydroxy-5methyl-4-isoxazolepropionová kyselina
AVP	Arginin vasopresin
BLA	Bazolaterální amygdala
<i>Bmal1</i> / BMAL1	z angl. Brain and muscle Amt-like gen/ protein
BDNF	z angl. Brain-derived neurotrophic factor
BNST-OV	Oválné jádro terminálního stria
CAAT	CCAAT/CAAT box
CALB	Calbindin
cAMP	Cyklický-3',5'- adenosin monofosfát
CCG	Hodinami kontrované geny (z angl. clock controlled genes)
C/EBP	z angl. CCAAT-enhancer-binding proteins
CEA	Centrální jádro amygdaly
CK1 δ	Kasein kináza delta
CK1 ϵ	Kasein kináza epsilon
<i>Clock</i> / CLOCK	z angl. Circadian locomotor output cycles kaput gen/ protein
CMS	Chronický mírný stres
CRE	z angl. Calcium/cAMP response element
CREB 1,2	z angl. Calcium/cAMP response element binding protein
<i>Cry 1,2</i> / CRY 1,2	Cryptochrom gen/ protein
DG	Dentate gyrus
DM	Dorzomedialní
EF1 α	z angl. Elongation factor 1-alpha
E-LTP	Časná dlouhodobá potenciace (angl. early long term potentiation)
ERK	z angl. extracellular signal-regulated kinases
FboxL3	F-box/LRR-repeat protein 3
GABA	γ -aminomáselná kyselina
GRP	Gastrin uvolňující peptid (z angl. Gastrin-releasing peptid)
GTPáza	Guanozin trifosfát fosfohydroláza
LTD	Dlouhodobá deprese (z angl. long term depression)

LTM	z angl. Long-term memory
LTP	Dlouhodobá potenciace (z angl. long term potentiation)
L-LTP	Pozdní dlouhodobá potenciace (z angl. late long term potentiation)
mENK	Met-enkephalin
mRNA	Mediátorová ribonukleová kyselina (mediator ribonucleic acid)
MAPK	AMP-MAP kináza
MEKK	MAPK/ERK kinase
NMDA	N-methyl-D-aspartát
NPAS2	Neuronal PAS domain protein 2
PACAP	z angl. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptid
PAS	z angl. Per – period circadian protein, Arnt – aryl hydrocarbon receptor nuclear tranlocator protein, Sim – single-minded protein
PCR	Polymerázová řetězová reakce (z angl. polymerase chain reaction)
<i>Per 1,2,3</i> / PER 1,2,3	Period gen/ protein
PKA	Proteinkináza A
Raf	z angl. Rapidly Accelerated Fibrosarcoma
Ras	Ras protein, malá GTPáza
Rev-erba	Rev-erb alpha gen
RHT	Retino-hypotalamický trakt
Rora	z angl. Retinoic acid-related orphan receptor alfa
SCN	Suprachiasmatická jádra (z angl. suprachiasmatic nuclei)
TPL	Time-place learning
TrkB	Tropomyosin receptor kináze B
VIP	Vasoaktivní intestinální polypeptid
VL	Ventrolateralní
VPAC2	Receptor pro vasoaktivní intestinální peptid (z angl. vasoactive intestinal peptide receptor 2)
WT	Kontrolní kmen (z angl. wild type)

Obsah

1. Úvod	1
2. Popis cirkadiánního systému	2
2.1. Molekulární mechanismus	2
2.2. SCN	5
2.3. Synchronizace SCN	6
3. Paměť	7
3.1. Rozdělení paměti	8
3.2. Molekulární mechanismus paměti	10
3.3. Synaptická plasticita	12
3.4. Hipokampus	13
3.5. Amygdala	15
3.6. Bazální ganglia	16
4. Paměť a cirkadiánní rytmus.....	16
4.1. Time-place learning.....	18
4.2. Hipokampus, paměť a cirkadiánní rytmus.....	19
4.3. Amygdala, paměť a cirkadiánní rytmus	21
5. Učení v závislosti na denní době sledované u člověka	22
6. Závěr	24
7. Přehled použité literatury.....	25

1. Úvod

Na organismy působí neustále se měnící environmentální vlivy. Aby zajistily své přežití, musejí se těmto podmínkám přizpůsobit. Vyvinul se u nich tedy mechanismus, který jim toto umožňuje - cirkadiánní systém generující rytmy, které se pohybují v periodě blízké 24 hodinám. Název pochází z latinského slova circa - přibližně a dies - den. Cirkadiánní systém se skládá z hlavního pacemakeru nacházejícího se v suprachiasmatických jádrech hypothalamu a periferních cirkadiánních oscilátorů. Periferní oscilátory uložené v ostatních částech mozku a těla jsou pod kontrolou suprachiasmatických jader. Celý tento systém je udržován pomocí zpětnovazebných smyček hodinových genů a jejich proteinů.

Schopnost kódovat a udržovat vzpomínky po dlouhá časová období, někdy i po celý život, je jedna z nejpozoruhodnějších vlastností mozku. Paměť umožňuje naučené informace a zkušenosti znovu vybavovat.

Pro utváření krátkodobých i dlouhodobých paměťových stop je velmi důležitá synaptická plasticita (specifická změna v účinnosti přenosu informace). Krátkodobá a dlouhodobá paměť se liší molekulárními principy nebo zvětšováním počtu synapsí. Určitý druh paměti je typický pro určitou strukturu mozku. Oblast, která je nejvíce spojována s paměťovými procesy je hipokampus. Další důležité struktury jsou amygdala a bazální ganglia.

V těchto výše zmíněných strukturách mozku byla zjištěna exprese hodinových genů. Vliv denní doby na paměť vykazuje podobnost napříč živočišnými druhy. Základem je společný molekulární mechanismus. Vliv cirkadiánního rytmu na paměť je předmětem mnoha studií. Pokud se podaří objevit všechny spojitosti mezi těmito dvěma procesy, mohly by tyto znalosti přispět k pochopení mechanismu vzniku a případné léčbě chorob jako jsou např. Parkinsonova choroba nebo Alzheimerova nemoc.

2. *Popis cirkadiánního systému*

Všechny organismy žijící na naší planetě vykazují mnoho cirkadiánních rytmů ve své fyziologii i v chování. Krevní tlak, sekrece hormonů, tělesná teplota a mnoho dalších tělesných funkcí jsou pod vlivem vnitřního cirkadiánního systému, který se vyvinul jako adaptace na rotaci Země kolem své osy a střídání světla a tmy během dne a noci. Významným rysem cirkadiánního systému je jeho schopnost pracovat autonomně i bez informací získávaných z vnějšího prostředí, tj. i např. v podmínkách stálé tmy (Albrecht & Eichele, 2003). Cirkadiánní oscilace však mohou být synchronizovány s vnějším prostředím působením tzv. Zeitgeberů, což jsou exogenní vlivy, které ovlivňují cirkadiánní rytmy, např. právě střídání světla a tmy (Gerstner & Yin, 2010).

Cirkadiánní systém je řízen hlavním pacemakerem, který se nachází v suprachiasmatických jádrech hypotalamu (SCN). Téměř každá buňka v těle obsahuje vlastní periferní hodiny, které jsou synchronizovány signály z SCN (Abraham, 2005). SCN jsou přímou dráhou spojena s retinou a dostávají tak informace o změnách světla, které je významným zeitgeberem zprostředkovávajícím organismu informaci o fázi dne (Albrecht & Eichele, 2003). Cirkadiánní hodiny tak synchronizují veškeré pochody v těle a umožňují organismům přizpůsobit se denním, ale i ročním cyklům (Sherry & Schacter, 1987).

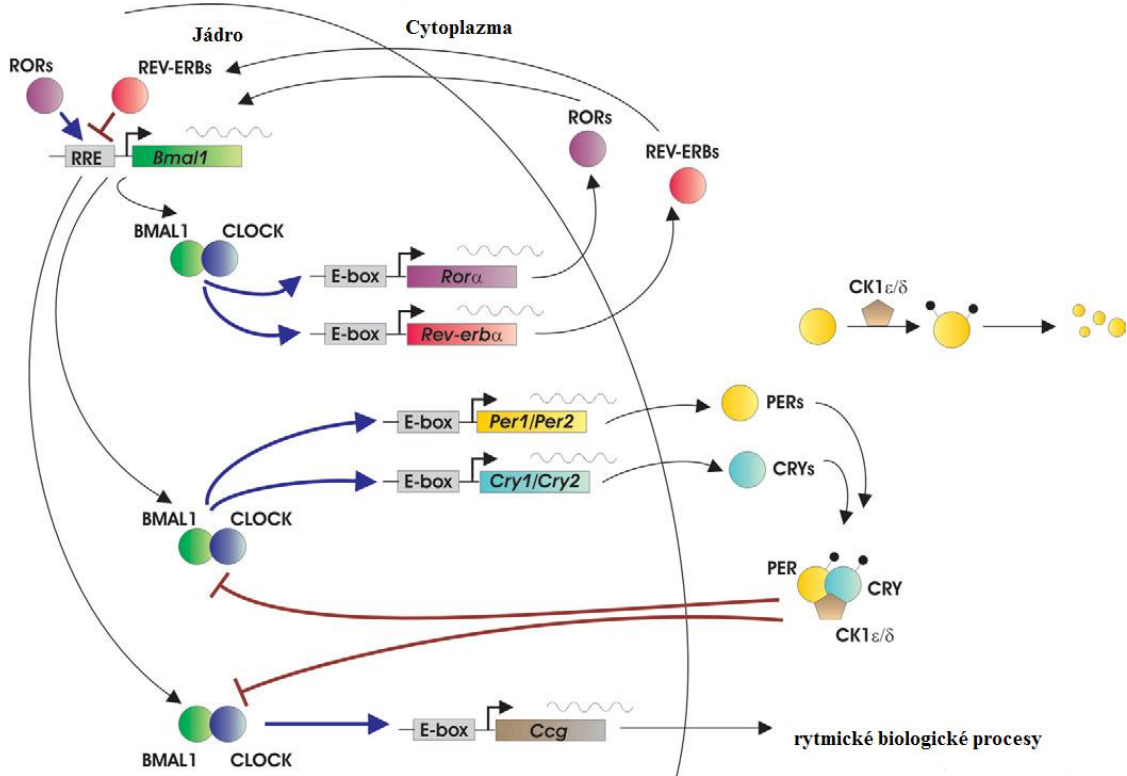
Poruchy cirkadiánních rytmů mohou vést ke vzniku velkého množství chorob včetně neurologických a psychiatrických poruch (Barnard & Nolan, 2008). Narušení cirkadiánních oscilací může ovlivnit konsolidaci paměti a podílet se na ovlivnění její funkce (Gerstner & Yin, 2010; Martin-Fairey & Nunez, 2014).

2.1. *Molekulární mechanismus*

Základní mechanismus generování cirkadiánních rytmů je zakotven v periodické expresi tzv. hodinových genů. Mezi hlavní hodinové geny patří: *Period (Per1, Per2, Per3)* a *Cryptochrom (Cry1, Cry2)*, *Bmal1*, *Clock*, *kasein kináza 1 ϵ / δ (CKI ϵ , CKI δ)*, *Rev-erba* a *Rora*. Tyto geny mezi sebou vytváří zpětnovazebné transkripční a translační smyčky, v nichž dochází k periodické indukci a inhibici transkripce hlavních hodinových genů.

Proteiny CLOCK a BMAL1 vytvářejí heterodimer (CLOCK/BMAL1), který se váže se na E-boxy v promotorech genů *Per* a *Cry*, *Rev-erba* a *Rora* a spouští jejich transkripci, (obr. č. 1). Výsledné proteiny PER a CRY vytvářejí heterodimery pomocí PAS domény, které putují zpět do jádra. Po přesunu se váží na heterodimer CLOCK/BMAL1, který je stále

navázán v místě E-boxů promotorů jejich vlastních genů. Vazbou na heterodimer inhibují svoji vlastní transkripci. Tento proces vytváří tzv. negativní zpětnovazebnou smyčku, která trvá přibližně 24 hodin a vytváří oscilace v expresi genů *Per*, *Cry* i dalších hodinových genů a hodinami kontrolovaných genů (CCG, z anglického clock controlled genes) (Ye et al., 2015; Huang et al., 2012; Ko & Takahashi, 2006).



Obr. č. 1 Zobrazení mechanismu zpětnovazebných transkripčně-translačních smyček. Heterodimer CLOCK/BMAL1 se váže na E-boxy promotorů genů *Per* a *Cry*. Konečným výsledkem je vznik proteinů PER a CRY, které se vracejí do jádra, kde inhibují aktivitu CLOCK/BMAL1 a tím transkripci svých genů. Heterodimer CLOCK/BMAL1 také ovlivňuje produkci proteinů RORα a REV-ERBα. Tyto proteiny pak kompetují o navázání na promotor genu *Bmal1* a podle typu navázaného proteinu inhibují nebo aktivují jeho transkripci. Další funkcí heterodimeru CLOCK/BMAL1 je regulace transkripce CCG, které ovlivňují další buněčné procesy a fyziologii jednotlivých buněk, např. počátek dělení buňky (Barnard & Nolan, 2008). Dalším důležitým mechanismem udržování rytmu je degradace PER a CRY pomocí fosforylace CKIδ/ε, jejich ubiquitinace a rozložení v proteazomu. Převzato z (Ko & Takahashi, 2006).

Aby docházelo k periodickému opakování cirkadiálního rytmu, musí být proteiny PER a CRY degradovány. Tento proces je zprostředkován pomocí ubikvitinového systému. Před ubikvitinací jsou PER proteiny fosforylovány kinázami CKI ϵ a CKI δ . Protein CRY vytváří komplex s FboxL3 (je součástí degradačního ubikvitin-ligázového komplexu), který se podílí na regulaci jeho stability. Ubikvitinované proteiny končí svou cestu degradací v proteazomu (Luca et al., 2007; Yoo et al., 2013; Akashi et al., 2002).

Heterodimer CLOCK/BMAL1 indukuje také transkripci genů *Rev-erba* a *Rora*. Proteiny ROR α a REV-ERB α se po navrácení do jádra váží na promotor genu *Bmal1*. Jejich vliv na transkripci tohoto genu je však odlišný. Při navázání proteinu REV-ERB α dochází k potlačení transkripční aktivity genu *Bmal1*. Pokud dojde k navázání proteinů ROR α , dochází naopak k aktivaci. Jejich soupeření o vazbu na promotor ovlivňuje transkripci genu *Bmal1* (Guillaumond, 2005; Preitner et al., 2002).

V dalších studiích byl objeven transkripční faktor NPAS2, který je schopen funkčně nahradit CLOCK. Při delecii genu *Clock* bývají rytmy specificky pozměněny, ale dále přetrvávají. To může být způsobeno tím, že NPAS2 dimerizuje s BMAL1, a funkčně tak nahrazuje CLOCK. Heterodimer NPAS2/BMAL1 může vzniknout pouze v SCN a předním mozku (DeBruyne, et al, 2007). Tento podpůrný typ udržování běhu vnitřních hodin je tedy prokázán pouze v těchto dvou strukturách. U periferních tkání k této vzájemné náhradě CLOCK/BMAL1 za NPAS2/BMAL1 nedochází (Reick et al., 2001; Landgraf et al., 2016).

Rytmus periodických oscilací hodinových genů a jejich proteinových produktů je tedy v buňkách udržován jejich vzájemnými zpětnovazebnými interakcemi. Důležitými faktory pro udržení rytmu jsou posttranslační modifikace proteinů a jejich řízená degradace. Hladiny jednotlivých proteinů a jejich mRNA v průběhu dne a noci rytmicky oscilují. Během dne je hladina mRNA hodinových genů *Cry* a *Per* vysoká, během noci klesá. Tyto oscilace jsou udržovány i v absolutní tmě a ke změnám v hladinách obou mRNA tedy dochází i v průběhu subjektivního dne a subjektivní noci. Hladina proteinů PER naopak stoupá během noci či subjektivní noci a během dne či subjektivního dne je nízká (Miyamoto & Sancar, 1998).

U savčího genomu bylo zjištěno, že 5-10% genové exprese je ovlivňováno hodinovými geny. Tyto CCG potom zajišťují tkáňově specifické funkce a jsou základním převodem mezi cirkadiálním mechanismem a konkrétními fyziologickými procesy (Jain, 2011). Genetická delece nebo mutace hodinových genů má za následek poruchy řady fyziologických funkcí. Například delece genu *Bmal1* způsobuje u myši nejen arytmičné chování, ale má za následek předčasné stárnutí (Kondratov et al., 2006; Eide et al., 2002). U těchto myši byly také

nalezeny poruchy učení, zhoršení dlouhodobé potenciace a dlouhodobé paměti testované v Morrisově vodním bludišti (Wardlaw et al., 2014).

2.2. SCN

V roce 1972 byla publikována první zpráva o SCN jako o cirkadiánním multioscilátoru, který řídí rytmy základních fyziologických funkcí prostřednictvím nervových a humorálních výstupů (Stephan & Zucker, 1972). V následujících letech bylo provedeno množství pokusů, které potvrdily funkci SCN jako hlavního oscilátoru cirkadiánního systému. Pro tyto experimenty byli jako modelový organismus využiti křečci, kterým bylo elektrickou lézí zničeno SCN. Po tomto zákroku byla u těchto zvířat pozorována ztráta cirkadiánní rytmicity v pohybové aktivitě, tělesné teplotě a dalších funkcích. Při opětovné transplantaci embryonálních SCN byla cirkadiánní rytmicity navrácena až z 80%, s délkou a fází donorového SCN (Ralph et al., 1990; Lehman et al., 1987).

SCN se nachází v anteroventrální části hypotalamu. Jsou umístěna přímo nad překřížením optických nervů, po obou stranách třetí mozkové komory. SCN získávají informaci o intenzitě světla přímo z retiny, prostřednictvím monosynaptického retinohypotalamického traktu (RHT) (Eide et al., 2002; Damiola et al., 2000).

SCN je tvořeno párovými shluky buněk, přičemž každý z nich je tvořený přibližně 10 500 nervových buněk. Každý neuron SCN je schopen vytvářet nezávislý cirkadiánní rytmus s vlastní periodou i fází (Abrahamson & Moore, 2001). Teprve vzájemná komunikace a synchronizace mezi jednotlivými neurony je zodpovědná za silný výstupní rytmus z SCN. Každé jádro se rozděluje funkčně i anatomicky na tyto části: dorzomediální část (DM) a ventrolaterální část (VL). Obě části SCN se odlišují syntézou proteinů, jejichž imunohistochemická detekce slouží jako marker morfologického rozdělení. V dorzomediální části SCN nalezneme velkou populaci neuronů syntetizujících arginin vazopresin (AVP), angiotensin II (AII), calbindin (CALB) a met-enkefalin (mENK). Dorzomediální část SCN je považována za samostatnější oscilátor, neboť její rytmicity je rezistentnější vůči změnám ve vnějším prostředí než u ventrolaterální části. Neurony, které se nacházejí v DM části, jsou menší a leží těsněji u sebe (Abrahamson & Moore, 2001; Moga & Moore, 1997; Lehman et al., 1987). Ve VL části můžeme nalézt neurony syntetizující vazoaktivní intestinální peptid (VIP) a gastrin-uvolňující peptid (GRP). Dále zde můžeme detekovat expresi neurotensinu a kalretininu. VL SCN přijímá informace o světle ze sítnice. V celé struktuře SCN působí inhibiční neuropřenašeč GABA. (Moore et al., 1995; Leak et al., 1999).

V SCN je důležitý prostředník VIP, který se váže na VPAC2 receptor a podílí se na synchronizaci jednotlivých neuronů a udržování jednotného cirkadiálního rytmu. VIP navázáním na VPAC2 moduluje účinnost uvolňování glutamátu, které je stimulováno světlem dopadajícím na sítnici. Absence receptoru VPAC2 může narušit světelnou signalizaci, která ovlivňuje SCN (Aton et al., 2005; Harmar et al., 2002).

2.3. Synchronizace SCN

Aby mohl cirkadiální systém plnit svoji úlohu v adaptaci organismů ke změnám ve vnějším prostředí, musí docházet k synchronizaci vnitřní periody s periodou vnějšího prostředí, ve kterém se organismy vyskytují. Tuto synchronizaci způsobuje především střídání světla a tmy během dne a noci. (Lewis, 2014).

Světelné signály zachycené retinou jsou vedeny RHT do VL- SCN, kde indukují expresi hodinových genů *Per1* a *Per2* (Moore et al., 1995). RHT je tvořený axony retinálních gangliových buněk, které jsou třetím buněčným typem savčích světločivných fotoreceptorů. Tyto gangliové buňky mají schopnost vnitřní fototransdukce, neboť obsahují zvláštní typ fotopigmentu opsinu tzv. melanopsin, který je citlivý na modré spektrum viditelného záření. Tyto buňky podávají informace o intenzitě světla, i když jsou ostatní fotoreceptory (tyčinky a čípky) inaktivovány (Delwig et al., 2016; Berson, 2002; Pickard, 1982).

Po aplikaci světelného pulsu dochází k uvolnění glutamátu a PACAP (pituitary adenylate cyclase-activating peptide) ze zakončení RHT ve VL části SCN. PACAP působí jako modulátor a zesiluje účinky glutamátu, který se váže na NMDA (N-methyl-D-aspartat) a AMPA (α -amino-3hydroxy-5methyl-4-isoxazolepropionová kyselina) receptory. Dochází k aktivaci kaskády proteinových kináz v postsynaptických neuronech a následné fosforylaci transkripčního faktoru CREB, který se váže na CRE element promotorů genů *Per1* a *Per2* a to vede k aktivaci jejich transkripce (Chen et al., 1999). Zjistilo se, že pokud budeme aplikovat světelný pulz v subjektivním dni, nevyvolá tento podnět expresi *Per* genů ani fázový posun cirkadiálních oscilací, ale pokud aplikujeme světelný impulz během subjektivní noci, dojde k indukci exprese *Per1* a fázovému předběhnutí či zpoždění, podle doby aplikace světelného pulzu. Aby došlo k indukci exprese genu *Per2*, musí impulz proběhnout v časné subjektivní noci (H. Toshiyuki, J. LeSauter, 2001). Světelný pulz tedy ovlivňuje hladinu proteinů PER1, PER2 a tím indukuje fázový posun cirkadiálních rytmů. Protein PER3 není světlem ovlivněn a nepatří ani mezi zásadní hodinové geny pro generování cirkadiálních

rytmů (Takumi et al., 1998; Akiyama et al., 1999; Akashi et al., 2002; Bhargava et al., 2015; Ye et al., 2015; Jain, 2011).

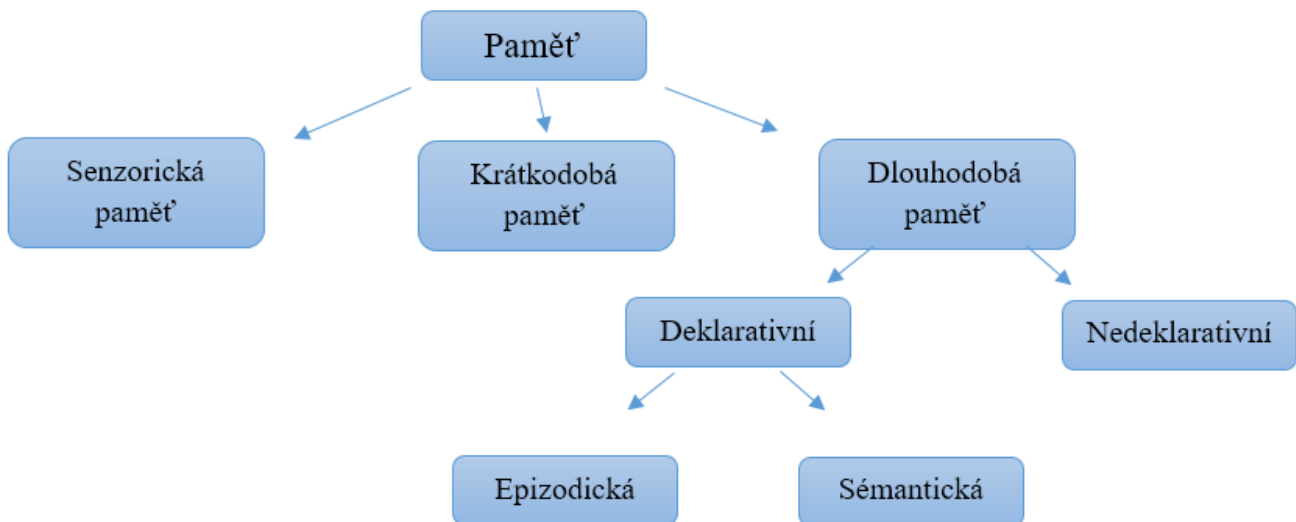
3. Paměť

Paměť je schopnost centrální nervové soustavy, uchovávat a poté vybavovat informace o předchozích vjemech. Tyto informace se získávají učením a paměť je dovoluje získávat, vytřídit, uložit a posléze zase vybavit, když je potřeba. Narušení těchto funkcí může vést až k zániku organismu, jehož behaviorální funkce jsou závislé na paměťových stopách. Uchování informace je umožněno díky plasticitě nervové soustavy a její schopnosti utvářet změny na buněčných synapsích. Tento proces lze rozdělit na kódování (z angl. *encoding*) – registraci podnětu a retenci (z angl. *storage*) paměťové stopy pomocí adaptace neuronové sítě. Následuje proces konsolidace paměti, kdy se paměťová stopa modifikuje a stává se dlouhodobou. Tato fáze může trvat hodiny či dny. Poslední fáze je vybavování, kdy dochází k vybavení zakódované paměťové stopy (Roldan-Valadez et al., 2012; Abel & Lattal, 2001).

Ukládání informací do paměti probíhá dvěma způsoby. Jednak jde o rychlé ukládání informací do tzv. přechodné paměti, která trvá jen několik minut a méně. Druhý způsob je ukládání informace do tzv. přetrvávající paměti, pro který je nutný jiný, složitější, proces, který bude popsán na následujícím pokusu a v následujících kapitolách. Toto rozdělení ukládání informací do paměti bylo definováno na základě experimentů u mořských plžů rodu *Aplysia*. Tyto experimenty ukázaly, že krátkodobá paměť nevyžaduje syntézu nových proteinů, ale dochází k modifikacím již existujících proteinů. Experimentátoři zkoumali habituaci (neškodný podnět je provázen poklesem intenzity určitých reflexů) a sensitizaci (stimulace běžným podnětem je doplněna o stimulaci averzivním podnětem, který způsobuje zesílení reflexu) na jednoduchém pokusu. Plže vystavili dvěma podnětům. Prvním byl neškodný stimul aplikovaný na sifon (část dýchací soustavy plže), na který plž reagoval stáhnutím sifonu. Po opakování dráždění dochází k habituaci, způsobené snížením množství mediátoru, který je na synapsích uvolňován. Při aplikaci druhého, averzivního stimulu souběžně s neškodným, dochází k zesílení odpovědi. Sensitizace může být krátkodobá či dlouhodobá. Při ukládání informací do dlouhodobé paměti dochází k aktivaci exprese genů, syntéze nových proteinů a následným změnám na synapsích, či k tvorbě nových synapsí (Kandel, 2001). Tento experiment byl upraven a zopakován podle Kandelova experimentu publikovaného v roce 1962.

3.1. Rozdělení paměti

Paměť se rozděluje podle několika různých kritérií. Rozdělení paměti není vždy shodné, existuje několik variací. Za prvé podle doby uchování, a to na paměť sensorickou, krátkodobou a dlouhodobou. Za druhé podle způsobu vybavení informace a to na deklarativní paměť (explicitní) a nedeklarativní (implicitní), (obr. č. 2)



Obr. č. 2: Schéma nejběžnějšího rozdělení druhů paměti (Převzato a upraveno z Kalska, 2006; Ylinen, & Sirviö, 1997)

Senzorická paměť neboli ultrakrátká, udržuje informace po velmi krátkou dobu. Informace zachycují příslušné smyslové orgány a dále jsou zpracovávány sensorickou pamětí. Zde se rozhodne, zda je informace důležitá a jestli postoupí k zpracování do krátkodobé paměti (viz. následující odstavec). Rozděluje se podle toho, kterým příslušným smyslem byla zachycena, tedy na vizuální, sluchovou a hmatovou. Kapacita této paměti je velmi omezená (Endel Tulving, 1995).

Do krátkodobé paměti, (operativní paměti, neboli pracovní paměti) přicházejí informace ze sensorické paměti a zpracovávají se zde informace vyvolané z dlouhodobé paměti. Mezi položky, které jsou nejčastěji spojeny s krátkodobou pamětí, patří například: letopočty, telefonní čísla, slova, ale i delší souvětí. Její kapacita je ovšem omezena - model 7 ± 2 položek - Millerovo magické číslo - označuje počet prvků, které je průměrný člověk schopen udržet v krátkodobé paměti. Tento model popsal G. A. Miller v roce 1956 a domníval se, že existuje horní limit pro krátkodobou paměť. Tento jev ověřoval v

experimentu, ve kterém byl zjišťován rozsah paměti. Zúčastněným dobrovolníkům pouštěl do sluchátek seznam čísel a jejich úkolem bylo zopakovat tento seznam. Většina zúčastněných si byla schopna vybavit právě 7 ± 2 položek ze seznamu. Tento rozsah paměti je často interpretován jako kapacita krátkodobé paměti. Takto uložené informace se v krátkodobé paměti uchovávají pouze po dobu několik vteřin (Watkins, 1977). Postupně se ale zjistilo, že Millerovo číslo platí jen při určitých podmínkách. Záleží například na délce zapamatovaných slov. Čím je počet písmen delší, tím je kapacita krátkodobé paměti omezenější. Totéž platí pro známá slova, která se pamatují snadněji. Model Millerova magického čísla je tedy omezen velkým počtem výjimek (Lecompte, 1999).

Pro uchování informace v krátkodobé paměti je důležité její opakování, jinak se informace ztratí. Krátkodobá paměť také slouží jako prostor pro mentální operace (kognitivní proces – proces kódování, zpracování a retenci informací a znalostí), (Baddeley & Hitch, 1974).

Dlouhodobá paměť uchovává zkušenosti a poznatky důležité pro život. Je většinou definicí pro pojem paměti jako takové. Doba uložené informace se pohybuje od několika hodin po několik let. Její kapacita je teoreticky neomezená. Projevuje odolnost vůči zapomínání a ztrátě uložených informací. Při učení se nejlépe pamatují logické celky a vštěpování informací se nazývá memorování – mechanické opakování. (Craik & Lockhart, 1972; Willingham et al., 1997).

Deklarativní paměť nám zprostředkovává vzpomínky o událostech, autobiografie jedince či známá fakta. Tato část paměti byla pojmenována podle toho, že její obsah může být vyjádřen verbálně, tedy deklarován. Umožňuje vědomě si vybavit určitou informaci. (Cohen Neal & Larry, 1980). Hlavní zprostředkovatel deklarativní paměti je hipokampus. Je dále dělena na epizodickou a sémantickou část. Tyto dva druhy paměti zpracovávají informace přicházející ze smyslových a kognitivních systémů.

Pojem epizodická paměť vyslovil poprvé Endel Tulving (1993). Epizodická paměť nám dovoluje uvědomovat si prostorový a časový rámeček našich vzpomínek. Umožňuje si vybavovat nápady, myšlenky a pocity. Obsahuje vzpomínky na vlastní život, čili se může nazývat také pamětí autobiografickou. Epizodická paměť je orientována do minulosti. Zřejmě se vyvinula ze sémantické paměti (Sherry & Schacter, 1987; Roldan-Valadez et al., 2012). Epizodická paměť asociuje s těmito mozkovými strukturami: hipokampální formací, thalamem, mozečkem a prefrontálním kortexem (Lepage & Achim, 1993).

Sémantická paměť zahrnuje poznatky o faktech světa, které jsme se naučili. Jsou to informace většinou verbálního druhu. Sémantická paměť uchovává informace o obecných

faktech, znalosti, verbální znaky a jejich význam. Tyto informace nejsou vázané na jednotlivé události. Sémantická paměť je umožňuje vybavit a formulovat. Také umožňuje přizpůsobit se různým situacím bez využití smyslů a mimo vybavení časoprostorového kontextu. V určitých operacích sémantická paměť zůstává závislá na epizodické paměti (Tulving, 1972; Tulving, 1993).

Nedeklarativní paměť je vývojově nejstarším druhem paměti. Je prostředníkem k zapamatování dovedností a motorického učení, které má odolnost vůči zapominání (Rusina, 2004). Tento typ paměti výrazně ovlivňuje tzv. priming. Priming je nevědomý kognitivní proces, který umožňuje rychleji si vybavit uložené dovednosti při opakované stimulaci. Tento proces také vyžaduje opakování, jinak je ohrožen zapomináním, jako ostatní paměťové systémy (Tulving & Schacter, 1987; Tulving & Schacter, 1990).

Nedeklarativní paměť je hůře verbálně interpretovatelná a je nezávislá na vědomí. Není zde vyžadované přímé soustředění na daný úkon. Nedeklarativní paměť je zprostředkována hlavně bazálními ganglii, mozečkem, talamem a určitými oblastmi kůry (Tulving & Schacter, 1990).

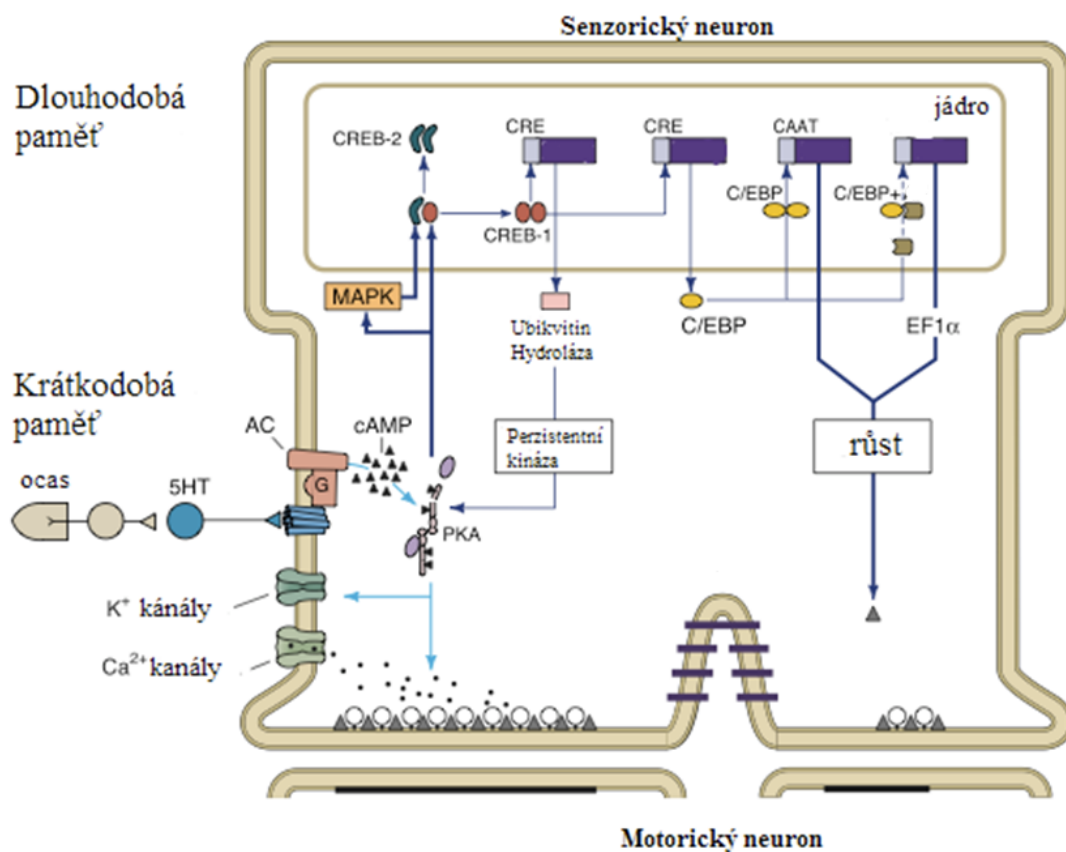
3.2. Molekulární mechanismus paměti

Tvorba paměťových stop je závislá na účinnosti synaptických spojení a synaptické plasticitě. Zatímco krátkodobá paměť pro svůj vznik nepotřebuje syntézu proteinů, proces utváření dlouhodobé paměti je na tvorbě nových proteinů závislý. U krátkodobé paměti dochází ke kovalentním modifikacím již existujících proteinů, a tak dochází pouze k úpravám již vytvořených synaptických spojení. U dlouhodobé paměti, jak bylo zmíněno, dochází k aktivaci genové exprese, syntéze nových proteinů, a k tvorbě nových synaptických spojení.

Glutamátergní synaptická signalizace aktivuje kaskády druhých posílů, které zahajují v jádře transkripci genů potřebných pro dlouhodobou paměť (*obr. č. 3*) (Kandel, 2001). Transkripční faktor CREB reguluje transkripci dalších genů (např. neurotrofinu BDNF (brain-derived neurotrophic factor), ovlivňuje tvorbu nových synaptických zakončení a patří mezi významné faktory pro formování paměti. U mouchy *Drosophila* bylo zjištěno, že nadměrná exprese represoru izoformy CREB2 zruší dlouhodobou, ale neovlivní krátkodobou paměť. Pokud ale dochází k nadměrné expresi aktivátoru CREB1, dochází k posílení dlouhodobé paměti (Gerstner & Yin, 2010).

Pro správné fungování dlouhodobé paměti je zapotřebí nejen aktivovat pozitivní regulátory paměti, ale také inhibovat negativní regulátory paměti, jako je například transkripční faktor CREB2.

Podnět, který je ukládán do paměti, může mít dva průběhy. Když působí sám, vytváří se selektivní zvýšení synaptické síly, která je využita pro krátkodobou paměť. Pokud stimul působí ve spojení s aktivací CREB, dojde k vytváření proteinů pro posílení synaptického přenosu v celém neuronu, a vytváří se tak trvalé změny v synaptické síle (Gerstner & Yin, 2010).



Obr. č. 3 Na tomto obrázku je znázorněna molekulární podstata krátkodobé (short-term) a dlouhodobé (long-term) paměti popsána na synapsi neuronu plže rodu *Aplysia*. Stimulace ocasní části plže způsobí dočasné uvolňování serotoninu (5HT), který přes receptor aktivuje adenylylát cyklázu (AC). Ta způsobí lokální navýšení cAMP a následně aktivuje PKA (protein kináza A). Katalytické podjednotky oddělené od komplexu fosforylují kanály, například draslíkové kanály. Dochází k influxu vápníku a tento proces vede k uvolnění transmitteru a následnému přenosu signálu. Tento popsany proces je základem krátkodobé paměti. Jakmile dochází k opakované stimulaci a navýšení hladiny cAMP, PKA se přemisťuje do jádra spolu s MAPK (Mitogen-activated protein kinases). V jádře PKA a MAPK fosforylují a aktivují CREB odstraněním inhibitoru CREB2. CREB1 aktivuje další

transkripce dalších genů (navázání na CRE element promotor) a také aktivuje ubikvitinové hydrolázy, která reguluje PAK. CREB1 aktivuje také C/EBP (CAAT-Box signalizuje vazebné místo). Ten aktivuje expresi dalších genů a faktor EF1 α , který vede k tvorbě nových synaptických spojení. Tyto transkripční faktory vedou ke vzniku dlouhodobé paměti (převzato od Abel & Lattal, 2001; Kandel, 2001).

3.3. *Synaptická plasticita*

Synaptická plasticita umožňuje nervovému systému přizpůsobovat se změnám. Poprvé byla popsána při výzkumu obřích neuronů měkkýše *Aplysia californica* Erikem Kandelem (1962). Je vysvětlena jako změna síly ve spojení mezi neurony, tedy synapsí, které podmiňují uložení paměťových stop. Je vyvolána specifickým podrážděním neuronů a udržuje zesílený synaptický přenos mezi dvěma neurony po dlouho dobu. Je často doprovázena strukturální změnou synapsí (Lu et al., 2008).

V mozku se vyskytují různé druhy této synaptické plasticity. Plasticita je schopnost nervového systému přizpůsobit se určitým nárokům, které působí z vnějšího prostředí nebo z vnitřního prostředí organismu. Synaptická plasticita zahrnuje procesy dlouhodobé potenciace (LTP z angl. *long-term potentiation*) a dlouhodobé deprese (LTD z angl. *long-term potentiation*). Hlavní rozdíl mezi LTP a LTD je ve frekvenci stimulace. Pro LTP musí proběhnout stimulace ve výši 100 Hz, pro indukci LTD je nezbytná nízkofrekvenční stimulace o 3 Hz. LTP se dále rozděluje podle trvání fází a to na E-LTP – časná fáze LTP, která je indukována slabou vysokofrekvenční stimulací trvajícím 1-2 hodiny a L-LTP – dlouhodobá fáze LTP, která je naopak indukována opakovanou stimulací, která trvá více než 8 hodin (Frey et al., 1988).

LTP a LTD se hlavně vyskytují v těchto strukturách – bazálních gangliích, která jsou důležitá pro nové motorické dovednosti, hipokampu, striatu a mozkové kůře, které jsou důležité pro vytváření paměťových stop.

LTP a LTD je spojena s postsynaptickou aktivací NMDA receptorů. Tento receptor patří k excitačním receptorům glutamátového typu. Je zásadní pro učení a prostorovou paměť v oblasti hipokampu CA3 (Lee and Kesner, 2002). Do této skupiny ionotropních glutamátových receptorů řadíme také AMPA. Jsou to receptory, které jsou po aktivaci propustné pro sodíkové, draslíkové a vápníkové ionty. AMPA receptor je aktivován navázáním agonistů L-glutamátu a glycinu na vazebné místo. NMDA k aktivaci potřebuje, kromě této vazby, ještě silnou depolarizaci neuronů. Silná depolarizace je důležitá proto, aby

došlo k odstranění hořčnatých iontů, které blokují kanály NMDA receptoru a brání vstupu vápníku do buňky. Aktivace NMDA receptoru přispívá ke zvýšení koncentrace vápníkových iontů uvnitř buňky. Zvýšená koncentrace vápníku (do 150 nM) v buňce umožňuje tvorbu LTP (Malenka & Nicoll, 1993; Bliss & Collingridge, 1993; Šťastný et al., 2003).

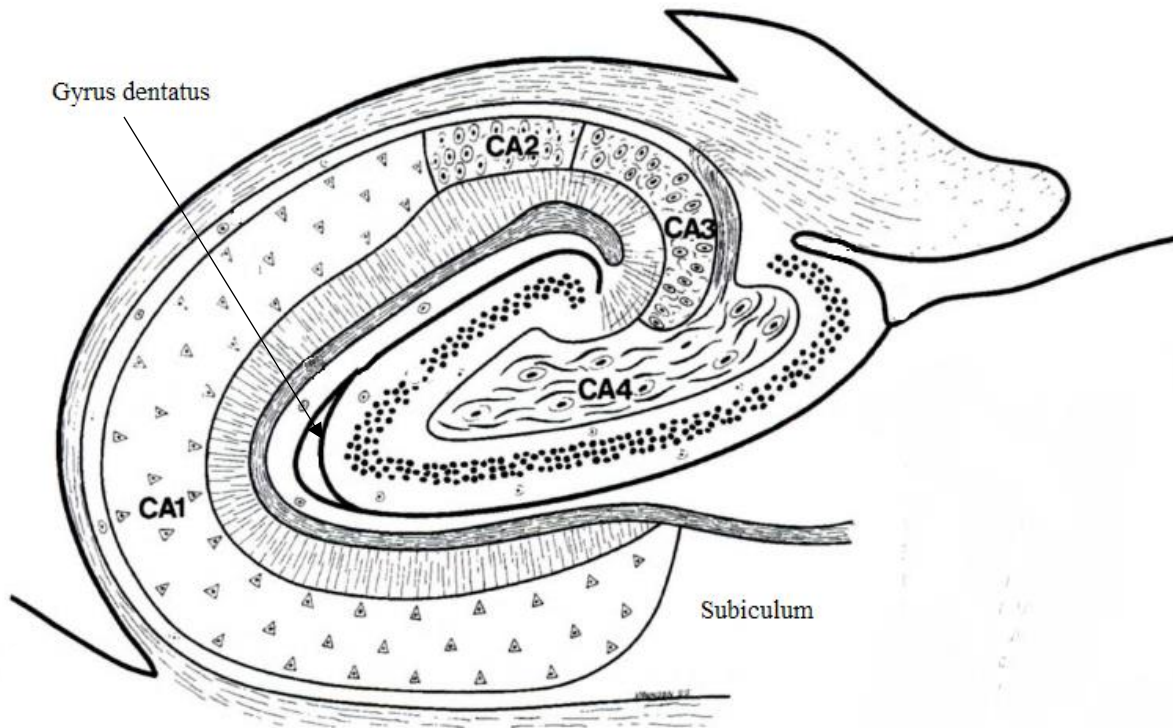
Důležitý pro LTP je protein BDNF. Jeho nedostatek negativně ovlivňuje dlouhodobou paměť (Korte et al., 1995). Nedostatek BDNF může způsobovat také zhoršení paměti ve stáří. BDNF má vysokou afinitu k receptoru tyrosin kináze B (TrkB). Při navázání BDNF na TrkB se aktivuje řada signalizačních kaskád, které jsou důležité pro učení (Martin-Fairey & Nunez, 2014).

Synaptická plasticita se mění v závislosti na denní době, velikost LTP v noci vrcholí. Tato fakta poukazují na spojitost paměti a vlivu denní doby na synaptickou plasticitu (Chaudhury et al., 2005).

3.4. *Hipokampus*

Hipokampus je důležitá mozková struktura pro utváření a uchovávání paměti. Je to oblast mozku nacházející se ve střední části temporálního laloku. Hraje důležitou roli u dlouhodobé, deklarativní a prostorové paměti. Hipokampus se morfologicky rozděluje na oblasti: CA1, CA2, CA3 a CA4. Jako struktura se hipokampus začleňuje s gyrem dentatem (DG) a subiculumem do hipokampální formace. První struktura hipokampu je DG, poté popisujeme CA4, dále CA3, CA2 a poté CA1, která přechází do subicula (*obr. č. 4*). Oblast CA1 i CA3 je významná pro udržování paměti, dochází zde k přesunu informace z krátkodobé paměti do oblasti, kde se ukládají trvalejší informace. CA1 oblast je také důležitá pro paměť, která je závislá na kontextu. Tato paměť se vztahuje k jevu, kdy je snazší si vybavit naučenou informaci, jakmile je kontext stejný, jako pro původní kódování informace do paměti. CA2 je velmi malá oblast hipokampu, která má význam pro paměť sociálního chování a některé další formy učení. Tato oblast je poměrně snadno morfologicky rozeznatelná od ostatních oblastí hipokampu, například jsou v této oblasti somata neuronů větší než v CA1 a CA3 oblastech. CA2 má potenciál ovlivnit všechny oblasti v hipokampu závislé na učení. Subiculum je horní část kůry gyru parahippocampalis. Experimenty s Morrisovým vodním bludištěm (vysvětleno později v této kapitole) ukázaly, že tato část hipokampu ovlivňuje mj. prostorovou paměť. DG je jednoduchá kortikální oblast hipokampální formace. Předpokládá se, že přispívá ke konsolidaci podnětů do epizodické paměti. Je totiž jednou z mála mozkových struktur, ve které v dospělosti probíhá

neurogeneze. (Amaral et al., 2007; O'Mara et al., 2001; Giap et al., 2000; Ji et al., 2008; Caruana et al., 2012).



Obr. č. 4 Na obrázku je schéma řezu hipokampem. Jsou tu popsány všechny struktury hipokampu: CA1, CA2, CA3 a CA4., dále oblast subicula a DG (převzato a upraveno podle Duvernoy, 2005).

První mezník pro zkoumání souvislosti paměti s hipokampem byl lékařský zákrok provedený na pacientovi H. M., který podstoupil léze výše zmíněných oblastí. Při podobných experimentech bylo zjištěno, že pacienti si nedokázali zapamatovat události, které se uskutečnily po tomto zákroku, ani si např. zapamatovat tváře lidí, se kterými se poté viděli. Trpěli anterográdní amnézií (neschopnost naučit se nové poznatky od doby, kdy nastalo postižení). Starší vzpomínky nebyly tolik ovlivněny, jsou uloženy v jiné části mozku, např. mozkové kůře. Byla tak zjištěna spojitost mezi ukládáním podnětů do dlouhodobé paměti a její ovlivnění hipokampem (Zola-Morgan, Squire, and Amaral 1986; Scoville & Milner, 1957).

U hlodavců zastává hipokampus místo, kde dochází k vytváření paměťových stop týkajících se prostorového učení. Potkani s kompletní lézí hipokampu byli umístěni do Morrisova bludiště. Tento experiment byl zaměřen na prostorovou navigaci a paměť. Součástí tohoto bludiště je ohraničený prostor, vodní plocha a záchranný ostrůvek, který je skryt pod

hladinou. Potkani s lézí hipokampu nedokázali najít záchranný ostrůvek umístěný pod hladinou, na rozdíl od potkana, který neměl podobný zásah. Obě skupiny měly několikadenní trénink. Při lézi hipokampu se zkoumalo, který typ paměti a jak bude zasažen. Zjistilo se, že prostorová paměť je nejnáchylnější při poškození hipokampu (Broadbent et al., 2004; Eichenbaum et al., 1994).

V hipokampu se nacházejí tzv. poziční buňky, občas také označované jako poziční neurony (z angl. slova *place cells*). Poziční buňky jsou druhem pyramidového neuronu. Tyto buňky jsou aktivní, když se zvíře nachází na specifickém místě. Podávají tak informace o prostředí a ovlivňují orientaci zvířete podle předmětů, které se v blízkosti nachází (O'Keefe et al., 1998).

Hipokampus spolupracuje mimo dalších struktur hlavně s amygdalou. Propojení těchto struktur umožňuje dát informaci do správného kontextu. Setkání s určitými emočními situacemi ovlivňuje, jak jsou nové informace kódovány do paměti a při opětovném setkání se tyto paměťové stopy snáze vybavují. Negativní emoce, například stres, vedou k aktivaci kináz MAPK/ERK v hipokampu, které dále aktivují kaskádu molekulárních událostí a vedou ke konsolidaci dlouhodobé paměti. Události spojené s emocí jsou pravděpodobně pro jedince důležitější (Phelps, 2004; Richter-levin & Akirav, 2001).

3.5. *Amygdala*

Je to primitivní párová struktura mandlovitého tvaru, která je uložena ve střední části spánkového laloku. Patří k limbické části předního mozku. Kontroluje a modifikuje motivační a citové procesy organismu. Napomáhá ukládání a vytváření vzpomínek, které mají nějaké emoční zabarvení, tzv. emoční paměť. Amygdala ovšem ovlivňuje hlavně epizodickou paměť (Phelps, 2004). Morfologicky a funkčně se dělí na bazolaterální amygdalu (BLA), kortikomedální a centrální jádro (CEA). Každá tato část zprostředkovává jiné role v emocionálních stavech. Kortikomedální jádro přijímá informace z čichových receptorů a je spojeno s hypotalamem pomocí recipročních spojů. Má spojitost se sexuálním chováním a apetencí, které má zřejmě spojitost s tím, že tato oblast je centrem pro zpracování čichových a vomeronasálních podnětů (Michael N. Lehman and Winans, 1982). BLA zpracovává příchozí smyslové vjemy a zpracovává podněty vyvolané strachem. Tato část je spojena s parietálními a temporálními oblastmi mozkové kůry. Při provedení léze BLA byla utlumena LTP v oblasti hipokampu a DG. CEA je spojeno také s asociačními oblastmi talamu a s chuťovými centry.

Do CEA přichází informace zachycené BLA, jsou zpracovány a směřují do výše zmíněných oblastí mozku. Hlavní funkční subsystémy jsou tedy BLA a CEA. (Lamont et al., 2005; Langmeier et al., 2006).

Amygdala se podílí na konsolidaci paměti a na averzivně motivovaném učení. Averzivní učení bylo testováno experimentem, ve kterém si modelový organismus měl zapamatovat spojení mezi neutrálním podnětem a averzivním podnětem, obvykle se jednalo o mírný elektrický šok do nohy zvířete. Zvíře si neutrální podnět obvykle spojí se šokem a na tento podnět reaguje zamrznutím (z angl. slova *freezing*). To je obranné chování na negativní podněty, podobně, jako když kořist předstírá smrt. Tento experiment byl využit při monitorování indukované aktivity v oblasti amygdaly. Při sluchovém neutrálním podnětu asociovaném s elektrickým šokem byl tímto způsobem detekován vznik potenciálu v BLA, nezbytném pro indukci synaptické plasticity podobné LTP hipokampu (Maren, 1999).

3.6. Bazální ganglia

Bazální ganglia patří mezi vývojově staré struktury. Morfologicky se rozdělují na nucleus caudatus, putamen (tyto dvě struktury se označují jako corpus striatum) a globus pallidus. Bazální ganglia savců se podílejí na řízení pohybu, potvrdila se také jejich role v učení a paměti, zejména oblast corpus striatum, která přijímá nejvíce kortikálních vstupů. Bazální ganglia mají úzkou souvislost s pracovní pamětí a jejím kódováním. Umožňují třídit přicházející podněty a zachovávat pouze relevantní informace. Jsou spojena s nedeklarativní pamětí. (McNab & Klingberg, 2008).

Parkinsonova nemoc, která se projevuje poruchami hybnosti končetin, je asociovaná s poruchou funkce bazálních ganglií. Při ztrátě funkce bazálních ganglií dochází u lidí i k poruše kognitivních funkcí. (Packard & Knowlton, 2002). Abnormální aktivita bazálních ganglií může vyvolat nemoci jako je Tourettův syndrom a obsesivní kompulzivní poruchy (Graybiel, 2003).

4. Paměť a cirkadiánní rytmus

Cirkadiánní systém hraje roli při kódování a retenci zachycených informací. Potvrzují to dosavadní výzkumy a ukazují na spojitost utváření a vyvolání paměťové stopy v závislosti na denní době. (Zueger et al., 2006). Cirkadiánní systém ovlivňuje také prostorovou paměť,

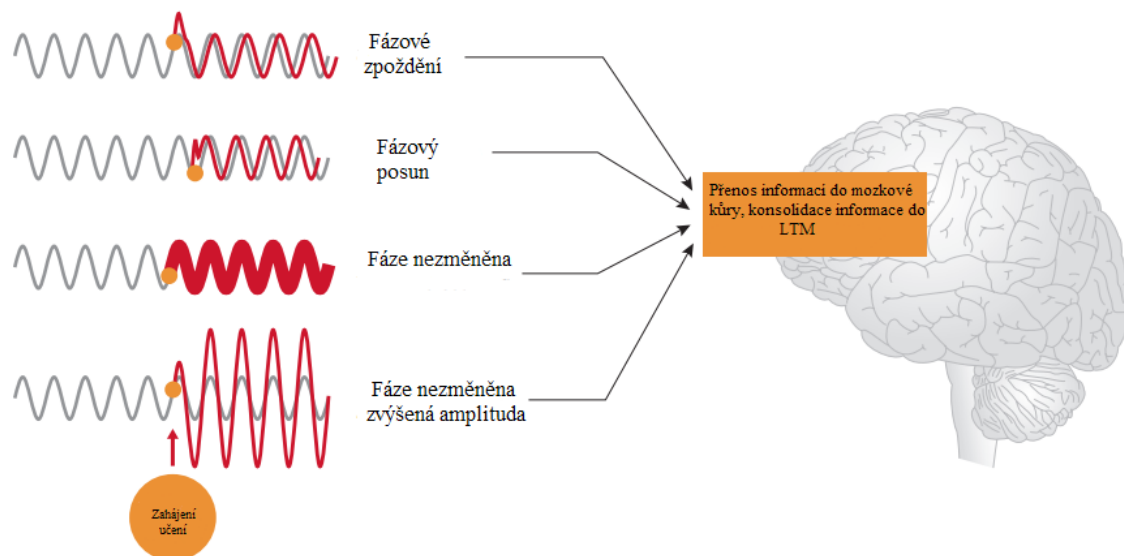
podmiňování strachem a může přispívat k vyhasnutí naučených informací. K těmto zjištěním přispěly experimenty popsané v této kapitole.

Chaudhury & Colwell (2002) provedli experiment, jehož cílem bylo testovat účinnost podmiňování strachem v závislosti na denní době. Ukázalo se, že tento způsob podmiňování byl u modelových organismů rychlejší, když byl pokus prováděn během dne; u myši, které byly trénovány v noci, došlo k rychlejšímu vyhasnutí naučeného chování. (Chaudhury & Colwell, 2002). Tyto výsledky jsou překvapivé, protože myši jsou nočními zvířaty. Je možné, že lepší podmiňování za dne umožňuje zvířeti lépe se připravit na přežití v kritičtějším období denního cyklu.

Dalším pokusem se zjistilo, že narušení cirkadiálního rytmu fázovým posunem světelného režimu o + 4 hodin nebo - 6 hodin do noci nebo obrácením cyklu den/noc, vytváří retrográdní amnézii. Při tomto experimentu byli využíváni potkani. Zvířata byla testována metodou pasivního vyhýbání se místu. Následně byla ovlivňována světelným posunem po dobu 3-5 dnů. Poté se zvířata opakovaně testovala na pasivní vyhýbání a tyto výsledky se porovnávaly s předchozím testováním. Výsledky ukazovaly na zhoršenou výkonnost. Toto ovlivnění fázovým posunem způsobilo retrográdní amnesii, která byla měřená po dobu 2 dní. U potkanů, kteří po učení prodělali fázový posun po 4-10 hodinách, nastaly poruchy spíše ve vybavování již vštípených informací, než že se zhoršila konsolidace paměti nových podnětů (Fekete et al., 1985).

Narušení cirkadiálního rytmu může způsobit poruchy učení, denní únavu, narušení spánku, konsolidace a narušení retence nově naučených podnětů. Některé z těchto příznaků byly nalezeny i u lidí postižených pásmovou nemocí (z angl. slova *jet-lag* - narušení cirkadiálních rytmů způsobené leteckým cestováním přes časová pásma) (Srinivasan et al., 2010).

Další pokus se zabýval cirkadiálním rytmem konsolidace prostorové paměti. Pro tyto účely bylo zvoleno Morrisovo vodní bludiště. Potkani byli rozřazeni do dvou skupin: aktivní skupina – tato zvířata byla testována 2-3 hodiny po nástupu jejich běžné noční aktivity, neaktivní skupina – testována 14-15 hodin po nástupu aktivity. Umístění ostrůvku se měnilo každý den. Aktivní skupina, prokázala lepší konsolidaci informace o místě uložení ostrůvku z předchozího dne (Valentinuzzi et al., 2004).



Obr. č. 5 Obrázek znázorňuje podobnost mezi procesy jako je světlem indukované fázové opoždění v SCN a hipokampální konsolidace paměti. Žlutý bod znamená zahájení učení. Začátek amplitudy a následná červená křivka znázorňuje odpověď na odezvu začátku učení, kterou odráží aktivace zvýšené MAPK a genové exprese v hipokampálních neuronech. V závislosti na tom, kdy nastane trénink ve srovnání s existující cirkadiánní oscilací neuronů (šedá křivka), může se fáze odezvy předcházet, být opožděna nebo beze změny (převzato od Eckel-Mahan & Storm, 2009).

4.1. *Time – place learning*

Time-place learning (TPL) je schopnost organismů spojovat si událost, umístění a čas. Tím si organismus zajišťuje větší šance pro přežití a vyvarování se nebezpečným situacím (např. optimalizuje si lokalizaci potravních zdrojů nebo se vyhýbá predátorům) (Boulos & Terman, 1980). První TPL bylo pozorováno u včel. Experiment probíhal tak, že se včely chodily krmit v určitou denní dobu na určité místo, které si pak spojovaly s touto příslušnou dobou. Pro každou dobu bylo místo krmení uloženo jinde. Poté bylo umístěno více krmných míst. Když pak byla podána potrava na dvě místa najednou, včely preferovaly to, které měly spojené s příslušnou dobou (Gould, 1987; Thorpe & Wilkie, 2002).

TPL bylo také testováno v experimentu, kde byly modelovým organismem myši, které si měly zapamatovat averzivní podnět týkající se denní doby. Experimentální místo bylo tvořeno ze tří ramen, na jejichž koncích se nacházela potrava. Avšak pro její získání musely myši vstoupit na mřížku. Tato mřížka se v určitou denní dobu nacházela pod slabým

elektrickým proudem. V 9:00 bylo pod proudem levé rameno, ve 12:00 prostřední a v 15:00 pravé rameno. Myši se během pár dnů naučily rozeznávat ramena, kterých se mají v příslušnou dobu vyvarovat. Tímto experimentem byla prokázána TPL u myši (Van der Zee, et al., 2013). TPL ovlivňují hodinové geny *Cry*. Toto bylo ověřeno v experimentu u myši s genetickou delecí *Cry* genu. V tomto pokusu podstoupily myši stejný experiment, jako byl využit pro ověření TPL. Myšim s genetickou delecí *Cry* genu se nepodařilo tento úkol zvládnout, na rozdíl od WT myši. Výsledky ukazují, že *Cry* geny jsou nutné pro TPL (Van der Zee, et al., 2008).

Experiment byl prováděn i s myšmi, které měly mutantní *Per1* a *Per2* geny. U těchto myši byla měřena aktivita v běhacím kole. Vykazovaly nepravidelnou aktivitu, která potvrdila poruchu cirkadiálního rytmu. Když byl ale studován vliv mutantního *Per* genu na TPL, při stejném průběhu experimentu jako u myši s genetickou delecí *Cry*, výsledky se shodovaly s WT, které se naučily poznávat nebezpečná místa během prvních dnů. Na základě těchto experimentů byla vyslovena hypotéza, že kompenzaci genů *Per1* a *2* při formování TPL může zastat gen *Per3*, protože jeho exprese stoupá, jakmile je *Per1* gen umlčen genetickou delecí (C. Mulder et al., 2013).

4.2. *Hipokampus, paměť a cirkadiální rytmus*

Hipokampus je nejdůležitější oblastí mozku, která je spojena s pamětí a cirkadiální systém má značný vliv na tuto strukturu a její funkci. Narušení denního rytmu může velmi negativně ovlivnit paměť. Tomuto tvrzení nasvědčuje fakt, že při provedení léze SCN dochází k výrazným změnám funkce paměti. Hipokampus je centrem především pro episodickou, prostorovou a deklarativní paměť. Většina studií zabývajících se vlivem cirkadiálního systému na paměť se soustředí právě na tuto strukturu (Smarr & Jennings, 2010; Kim & Diamond, 2002; Martin-Fairey & Nunez, 2014)

Pomocí imunohistochemického značení a PCR (polymerázová řetězová reakce) byla zjišťována exprese hodinových genů v hipokampu a jejich vliv na paměť. Hladina mRNA hodinových genů *mCry1*, *mCry2*, *mClock* a *mBmal1* byla nalezena vyšší v oblasti hipokampu v nočních hodinách podobně jako v SCN (Smarr & Jennings, 2010). To nasvědčuje existenci společného časování regulace transkripce hodinových genů. V dalším experimentu se zjistilo, že v hipokampu je vysoce exprimován protein PER2 v pyramidových neuronech v závislosti na denní době. Nejvyšší koncentrace byla pozorována časně z rána a posléze v pozdní noci. Exprese je tedy rytmická (Wang et al., 2009).

Hladina proteinů hodinových genů vyskytujících se v hipokampu v určitém čase ovlivňuje ukládání nových informací, dlouhodobou paměť a prostorovou paměť (Herzog et al. 2004; Jilg et al. 2010). Pomocí imunohistochemického značení byla detekována exprese CLOCK a BMAL1 v hipokampu starších myši. Byla nalezena nižší amplituda exprese těchto genů v porovnání s mladšími jedinci. Amplituda rytmu v expresi hodinových genů je tedy závislá i na věku (Wyse & Coogan, 2010).

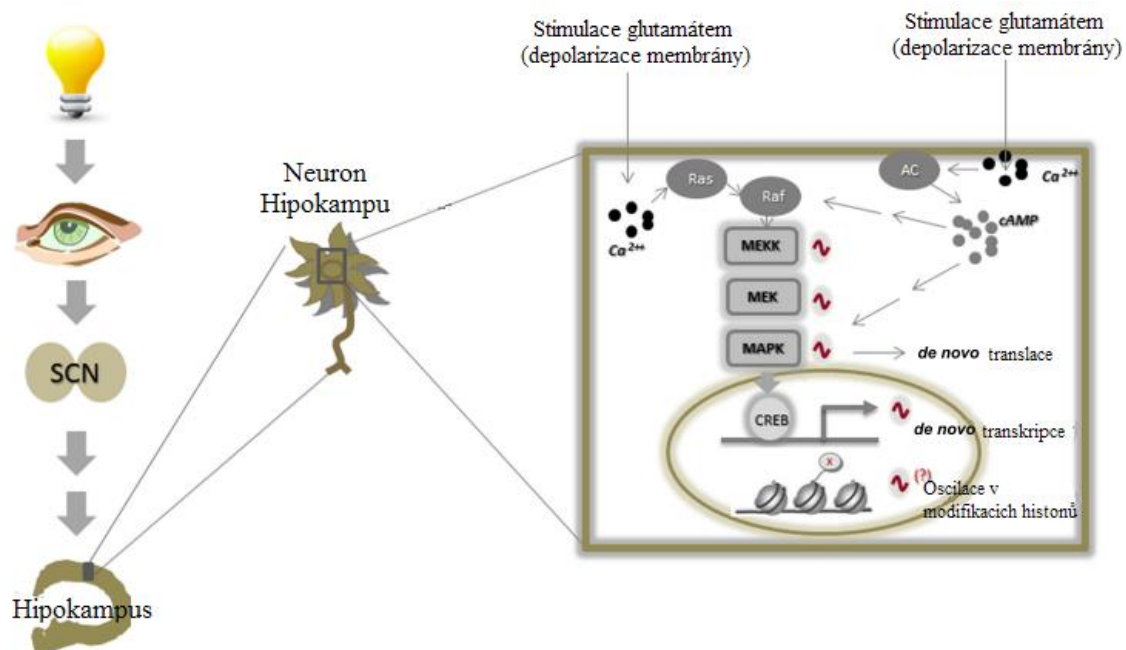
Narušený cirkadiánní rytmus může vést ke zhoršení paměti. Tato hypotéza byla ověřena experimentem, kdy se subjekty musely naučit seznam slov. Jedinci byli rozděleni do dvou skupin: první skupina se učila po probuzení a byla testována 8 hodin poté, druhá skupina se učila ve večerních hodinách a po skončení učení nešla spát. Přezkoušení také proběhlo 8 hodin po memorování. Retence naučených informací byla lepší u skupiny, která neměla absenci spánku (Nesca and Koulack, 1994).

GABA je podstatný neurotransmitter nervového systému a je distribuován ve velkém množství v SCN (Smarr & Jennings, 2010). Je ovlivněn denní dobou, působí jako inhibiční neurotransmitter v noci, ale ve dne se chová jako excitační neurotransmitter (Wagner et al., 1997). Z výsledků zajímavé studie vyplynula hypotéza, že SCN mohou přes cyklické uvolňování neurotransmiteru GABA modulovat učení. Při experimentu, kdy byla zvířata vystavena celodennímu působení světla, se naruší rytmicita SCN a tím i GABAergní synaptický přenos. Toto má vliv na synaptickou efektivitu potřebnou ke konsolidaci paměti v hipokampu (Ruby et al., 2008).

Pomocí imunohistochemických metod a western blotu se zjišťoval vliv cirkadiánních rytmů na MAPK a cAMP a jejich roli při konsolidaci paměti v rámci hipokampu. Aktivita enzymu MAPK je důležitá pro indukci hipokampální LTP (*Obr. č. 6*). Vrchol aktivity MAPK byl naměřen nejvyšší během dne, kdy myši jsou obvykle neaktivní. Oscilace v činnosti MAPK hipokampu jsou shodné s oscilacemi v hladině cAMP a aktivitě Ras. Ras proteiny patří do rodiny tzv. malých GTPáz. Ukázalo se, že u myši s lézí SCN byly narušeny oscilace MAPK aktivity v hipokampu (Smarr & Jennings, 2010). Narušené oscilace MAPK v hipokampu poukazují na spojení s hlavním cirkadiánním pacemakerem. Synaptická plasticita je závislá na kolísání hladin vápníku, cAMP a aktivity MAPK, která vykazuje cirkadiánní změny. Synaptická plasticita není statickým jevem, ale svoji aktivitu dokáže měnit v průběhu dne. Při testování krátkodobé paměti pomocí kontextuálního podmiňování se zjistilo, že se u myši vyskytuje podmiňování strachem, které není závislé na aktivitě MAPK v hipokampu. Výsledkem těchto experimentů je, že krátkodobá paměť na rozdíl od dlouhodobé, není závislá na aktivitě MAPK. Další hypotézou je, že opakované cirkadiánní cykly aktivace

MAPK stimuluje neustále cykly transkripce/translace synaptických proteinů, které jsou nezbytné pro stabilizaci dlouhodobé paměti (Eckel-Mahan, 2012; Eckel-Mahan et al., 2008).

Narušení, či fázový posun cirkadiálních rytmů pomocí stálého osvětlení může negativně ovlivnit dlouhodobou paměť a přispět k vytvoření retrogradní amnesie, tj. ztráty paměti, která je vztažena pouze na předchozí zkušenosti a paměťové stopy. Ta byla zjištěna u potkanů, kteří podstupovali test a byli ovlivněni posunem cirkadiálního rytmu pomocí světla.



Obr. č. 6 Světelný pulz je zachycen zrakovými orgány a přes RTH vstupuje do SCN. Podnět se z SCN dostává až do hipokampu. Na hipokampálním neuronu dochází díky navázání glutamátu na receptor k depolarizaci membrány a následnému influxu vápníkových iontů, které aktivují malou GTPázu Ras. Následuje aktivace proteinkinázy Raf, která aktivuje fosforylační kinázu MEKK. To je začátek aktivace MAPK kaskády. Následně MAPK vstupuje do jádra, kde fosforyluje a aktivuje CREB. CREB spouští expresi dalších genů a zřejmě i histonovou modifikaci. Druhou možností je, že influx iontů vápníku aktivuje adenylcyklázu, ta způsobí lokální navýšení cAMP, která aktivuje buď proteinkinázu Raf nebo (přes aktivaci PKA) aktivuje MAPK, která přechází do jádra a poté se proces shoduje (Eckel-Mahan, 2012).

4.3. Amygdala, paměť a cirkadiální rytmus

Denní rytmy u savců mohou modulovat emocionální stav. Amygdala zprostředkovává vytvoření paměťových stop a spojení s emočními prožitky. Emoční události mohou také

zhoršit či zlepšit hipokampální paměť. Oblast BLA zpracovává přicházející informace ze smyslových orgánů a thalamu (Akirav & Richter-Levin, 2002). Tato struktura je stejně jako hipokampus regulována hodinovými geny. V oblastech CEA, BLA i DG byla detekována přítomnost PER2 (Lamont et al., 2005). Cirkadiánní oscilace PER2 v CEA a BLA ovlivňují aktivitu (přes oblast DG) paměťových procesů v hipokampu (Lamont et al., 2005). Rytmus CEA a BLA, DG jsou diametrálně odlišné. V CEA byl nalezen vrchol ve večerních hodinách a v BLA a DG v ranních hodinách. Cirkadiánní oscilace je různě citlivá na adrenalectomii (chirurgické odstranění nadledviny). Po tomto zákroku byl zrušen rytmus PER2 v CEA, ale u BLA zůstal rytmus nezměněn. Rytmus PER2 v CEA je tedy modulován glukokortikoidy. (Akirav & Richter-Levin, 2002; Lamont et al., 2005). Protein PER2 je také rytmicky exprimován v BNST-OV (oválné jádro terminálního stria). Tato oblast se podílí na regulaci chování a emočních stimulů. Rytmus exprese PER2 v BNST-OV je synchronní s expresí PER2 v SCN. Léze SCN ani provedená adrenalectomie zcela nezrušila rytmicitu exprese PER2 v BNST-OV. Na základě těchto výsledků vznikla teorie, že BNST-OV obsahuje cirkadiánní oscilátory, které mohou fungovat jako prostředník mezi výstupy SCN a emočními stavy. Tato zjištění naznačují, že emoční stav může ovlivnit fyziologické denní rytmy.

V dalším experimentu byl studován vliv negativního emočního stimulu na narušení denní oscilace hodinových genů v oblasti BLA. Za tímto účelem byl využit model CMS - chronický mírný stres. Tento model působí na hodinové geny jako depresivní indukce (vyvolání depresivní nálady). Výsledky ukázaly, že všechny exprese hodinových genů byly pomocí indukce CMS zrušeny. Jedinou výjimkou zůstává hodinový gen *Bmal1*. (Savalli et al., 2015).

5. *Učení v závislosti na denní době sledované u člověka*

Vývoj člověka se přizpůsoboval každodennímu působení slunečního světla. Je přizpůsobený k 24hodinovému cyklu. V důsledku používání umělého osvětlení se lidstvu pozměnil přirozený životní styl a došlo k narušení cirkadiánního rytmu. Působení světla v noci má hlavně dva účinky; narušuje denní rytmy a inhibuje produkci melatoninu. Tento hormon produkováný epifýzou je důležitý pro střídání rytmu den/noc, ročních období a ovlivnění režimu spánku. Jeho produkce je největší během noci a jeho častá inhibice může způsobit závažná onemocnění jako je nespavost, deprese, vznik rakoviny a další (Reiter et al., 2007). Těmito následky jsou hlavně ohroženi lidé pracující na směny nebo lidé, kteří trpí pásmovou nemocí (Reiter et al., 2007).

Chronotypy (cirkadiánní preference) jsou individuální nastavení fyziologických, biochemických a psychologických funkcí člověka, které regulují načasování cyklů spánku a bdění. Rozdělují se nejčastěji na tři typy: ranní, nevyhraněný (tímto typem disponuje většina populace) a večerní.

Ranní chronotyp je typický bezproblémovým ranním vstáváním v běžném pracovním režimu, aktivitou během dopoledních hodin a časným ukládáním ke spánku; má předsunutou spánkovou fázi oproti chronotypu nevyhraněných jedinců. (Toh et al., 2001). Jedinci patřící do večerního chronotypu se vyznačují preferencí k vstávání v dopoledních hodinách a zvýšenou aktivitou v pozdních odpoledních hodinách. Bylo zjištěno, že večerní typy mají větší problém se přizpůsobit akademickému harmonogramu, u kterého je aktivita vyžadována v dopoledních hodinách (Preckel et al., 2011; Jones et al., 2007).

Na ovlivnění chronotypu se podílí nejen genetické složky, ale i behaviorální zvyklosti a vliv společnosti, který je nastaven spíše podle ranních chronotypů. Mnoho experimentů, z nichž jeden je popsán v následujícím odstavci, poukazují na to, že paměť může být ovlivňována jednotlivými chronotypy.

Experiment měl zhodnotit pomocí meta-analýzy kognitivní schopnosti a akademické výsledky v závislosti na druhu chronotypu. Potvrdilo se, že večerní typy, na rozdíl od ranních, mohou mít potíže s přizpůsobením akademickému harmonogramu a to se může projevit na zhoršení výsledků. (Preckel et al., 2011).

Učení v závislosti na denní době bylo pozorováno na adolescentních studentech. Cirkadiánní rytmus ovlivňuje pracovní paměť, pozornost a výkon. Schopnost ukládat fonologické a vizuální složky do sensorické paměti měli studenti snížené okolo čtvrté a sedmé hodiny ráno. Kognitivní procesy byly sníženy do jedenácté hodiny dopolední. Tato doba se jeví jako nevhodná pro učení. Adolescenti projevují zhoršené učení v ranních hodinách, kdy je pozornost a pracovní paměť v útlumu a následným nahrazováním učení ve večerních hodinách se prohlubuje spánková deprivace. Adolescentní studenti vykazují spíše večerní chronotyp, který se může měnit v závislosti na věku jedince (Valdez et al., 2014).

Bylo experimentálně prokázáno, že cirkadiánní rytmus ovlivňuje i okamžitou či opožděnou retenci události. Experiment ilustrující tento fakt probíhal tak, že žákům byl čten příběh ráno a odpoledne. Ranní skupina vykazovala lepší okamžitou paměť než odpolední skupina. Po uplynulé době 7 dnů, ale odpolední skupina vykazovala lepší výsledky. Tedy lepší dlouhodobou paměť (Folkard et al., 1977).

6. Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo shrnout poznatky o vzájemném vztahu mezi cirkadiánním systémem a pamětí. Jednotlivé struktury mozku, které souvisejí s pamětí, jsou ve spojitosti s cirkadiánním systémem. Oscilace hodinových genů, které jsou molekulární podstatou cirkadiánních rytmů, jsou ovlivňovány ve strukturách hipokampu, amygdale a bazálních ganglií působením cirkadiánního pacemakeru v SCN. Mnohé studie potvrzují, že cirkadiánní rytmy ovlivňují především konsolidaci paměti, zasahují ale také do retence paměti, kdy při ztrátě rytmicity působením stálého osvětlení může dojít ke vzniku retrográdní amnesie. Cirkadiánní systém ovlivňuje také prostorovou paměť, podmiňování strachem a může přispívat k vyhasnutí naučených informací. Je třeba provést mnoho experimentů týkajících se vzájemného vztahu těchto dvou systémů. Všechny mechanismy vzájemného působení paměti a cirkadiánního systému ještě nejsou objeveny, ale s určitostí můžeme říct, že paměť je na několika úrovních ovlivňována činností hodinových genů.

7. Přehled použité literatury

- Abel, T., & Lattal, M. L. (2001). Molecular mechanisms of memory acquisition, consolidation and retrieval. *Current Opinion in Neurobiology*, 11(2), 180–187.
- Abraham, U. (2005). Independent Circadian Oscillations of Period1 in Specific Brain Areas In Vivo and In Vitro. *Journal of Neuroscience*, 25(38), 8620–8626.
- Abrahamson, E. E., & Moore, R. Y. (2001). Suprachiasmatic nucleus in the mouse: Retinal innervation, intrinsic organization and efferent projections. *Brain Research*, 916(1-2), 172–191.
- Akashi, M., Tsuchiya, Y., Yoshino, T., & Nishida, E. (2002). Control of intracellular dynamics of mammalian period proteins by casein kinase I epsilon (CKIepsilon) and CKIdelta in cultured cells. *Molecular and Cellular Biology*, 22(6), 1693–703.
- Akirav, I., & Richter-Levin, G. (2002). Mechanisms of amygdala modulation of hippocampal plasticity. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 22(22), 9912–9921.
- Akiyama, M., Kouzu, Y., Takahashi, S., Wakamatsu, H., Moriya, T., Maetani, M., ... Shibata, S. (1999). Inhibition of light- or glutamate-induced mPer1 expression represses the phase shifts into the mouse circadian locomotor and suprachiasmatic firing rhythms. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 19(3), 1115–1121.
- Albrecht, U., & Eichele, G. (2003). The mammalian circadian clock. *Current Opinion in Genetics & Development*, 13(3), 271–277.
- Amaral, D. G., Scharfman, H. E., & Lavenex, P. (2007). The dentate gyrus: fundamental neuroanatomical organization (dentate gyrus for dummies). *Progress in Brain Research*, 163, 3–22.
- Baddeley, A. D., & Hitch, G. (1974). Working memory. *The Psychology of Learning and Motivation Advances in Research and Theory*.
- Barnard, A. R., & Nolan, P. M. (2008). When clocks go bad: Neurobehavioural consequences of disrupted circadian timing. *PLoS Genetics*, 4(5).
- Berson, D. M., Dunn, A. F., & Takao, M. (2002). Phototransduction by Retinal Ganglion Cells That Set the Circadian Clock. *Science*, 295(5557), 1070–1073.
- Bhargava, A., Herzog, H., & Ananthasubramanian, B. (2015). Mining for novel candidate clock genes in the circadian regulatory network. *BMC Systems Biology*, 9(1), 78.
- Bliss, T. V. P., & Collingridge, G. L. (1993). A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus.pdf. *Nature*.
- Boulos, Z., & Terman, M. (1980). Food availability and daily biological rhythms. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 4(2), 119–131.
- Bozek, K., Relogio, A., Kielbasa, S. M., Heine, M., Dame, C., Kramer, A., & Herzog, H. (2011). Regulation of Clock-Controlled Genes in Mammals. *Current Science*, 101(11), 1435–1439.
- Broadbent, N. J., Squire, L. R., & Clark, R. E. (2004). Spatial memory, recognition memory, and the hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(40), 14515–20.
- Caruana, D. A., Alexander, G. M., & Dudek, S. D. (2012). New insights into the regulation of synaptic plasticity from an unexpected place: Hippocampal area CA2. *Learning & Memory*, 19(9), 391–

- Cohen Neal, & Larry, S. (1980). Preserved learning and retention of pattern-analyzing Skill in Amnesia. 207-210
- Craik, F. I. M., & Lockhart, R. S. (1972). Levels of processing: A framework for memory research. *Journal of Verbal Learning and Verbal Behavior*, 11(6), 671–684.
- Damiola, F., Le Minli, N., Preitner, N., Kornmann, B., Fleury-Olela, F., & Schibler, U. (2000). Restricted feeding uncouples circadian oscillators in peripheral tissues from the central pacemaker in the suprachiasmatic nucleus. *Genes and Development*, 14(23), 2950–2961.
- DeBruyne, J. P., Weaver, D. R., & Reppert, S. M. (2007). CLOCK and NPAS2 have overlapping roles in the suprachiasmatic circadian clock. *Nature Neuroscience*, 10(5), 543–545.
- Delwig, A., Larsen, D. D., Yasumura, D., Yang, C. F., Shah, N. M., & Copenhagen, D. R. (2016). Retinofugal Projections from Melanopsin-Expressing Retinal Ganglion Cells Revealed by Intraocular Injections of Cre-Dependent Virus. *Plos One*, 11(2).
- Eckel-Mahan, K. L. (2012). Circadian Oscillations within the Hippocampus Support Memory Formation and Persistence. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 5, 1-4.
- Eckel-Mahan, K. L., Phan, T., Han, S., Wang, H., Chan, G. C. K., Scheiner, Z. S., & Storm, D. R. (2008). Circadian oscillation of hippocampal MAPK activity and cAmp: implications for memory persistence. *Nature Neuroscience*, 11(9), 1074–1082.
- Eckel-Mahan, K. L., & Storm, D. R. (2009). Circadian rhythms and memory: not so simple as cogs and gears. *EMBO Reports*, 10(6), 584–591.
- Eide, E. J., Vielhaber, E. L., Hinz, W. A., & Virshup, D. M. (2002). The circadian regulatory proteins BMAL1 and cryptochromes are substrates of casein kinase. *Journal of Biological Chemistry*, 277(19), 17248–17254.
- Eichenbaum, H., Otto, T., & Cohen, N. J. (1994). 2 Functional Components of the Hippocampal Memory System. *Behavioral and Brain Sciences*, 17(3), 449–472.
- Fekete, M., van Ree, J. M., Niesink, R. J. M., & de Wied, D. (1985). Disrupting circadian rhythms in rats induces retrograde amnesia. *Physiology and Behavior*, 34(6), 883–887.
- Folkard, S., Monk, T., Bradbury, R., & Rosenthal, J. (1977). Time of day effects in school children's immediate and delayed recall of meaningful material. *British Journal of Psychology*, 45-50
- Frey, U., Krug, M., Reymann, K. G., & Matthies, H. (1988). Anisomycin, an inhibitor of protein synthesis, blocks late phases of LTP phenomena in the hippocampal CA1 region in vitro. *Brain Research*, 452(1-2), 57–65.
- Gerstner, J. R., & Yin, J. C. P. (2010). Circadian rhythms and memory formation. *Nature Reviews. Neuroscience*, 11(8), 577–588.
- Giap, B., Jong, C., Ricker, J., Cullen, N., & Zafonte, R. (2000). The Hippocampus: Anatomy, Pathophysiology, and Regenerative Capacity. *J Head Trauma Rehabil*, 875-894
- Gould, J. L. (1987). Honey bees store learned flower-landing behaviour according to time of day. *Animal Behaviour*, 35(5), 1579–1581.
- Graybiel, A. M. (2003). The Basal Ganglia. *Science*, 2003. 509- 511
- Guillaumond, F., Dardente, H., Giguere, V., & Cermakian, N. (2005). Differential Control of Bmal1 Circadian Transcription by REV-ERB and ROR Nuclear Receptors. *Journal of Biological Rhythms*, 20(5), 391–403.

- Harmar, A. J., Marston, H. M., Shen, S., Spratt, C., West, K. M., Sheward, W. J., ... Hastings, M. H. (2002). The VPAC2 receptor is essential for circadian function in the mouse suprachiasmatic nuclei. *Cell*, *109*(4), 497–508.
- Herzog, E. D., Aton, S. J., Numano, R., Sakaki, Y., & Tei, H. (2004). Temporal Precision in the Mammalian Circadian System: A Reliable Clock from Less Reliable Neurons. *Journal of Biological Rhythms*, *19*(1), 35–46.
- Huang, N., Chelliah, Y., Shan, Y., Taylor, C. A., Yoo, S.-H., Partch, C., ... Takahashi, J. S. (2012). Crystal structure of the heterodimeric CLOCK:BMAL1 transcriptional activator complex. *Science (New York, N.Y.)*, *337*(6091), 189–94.
- Chaudhury, D., & Colwell, C. S. (2002). Circadian modulation of learning and memory in fear-conditioned mice. *Behavioural Brain Research*, *133*(1), 95–108.
- Chaudhury, D., Wang, L. M., & Colwell, C. S. (2005). Circadian Regulation of Hippocampal Long-Term Potentiation. *June*, *28*(2), 225–236.
- Chen, D., Buchanan, G. F., Ding, J. M., Hannibal, J., & Gillette, M. U. (1999). Pituitary adenylyl cyclase-activating peptide: a pivotal modulator of glutamatergic regulation of the suprachiasmatic circadian clock. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *96*(23), 13468–13473.
- Ji, J., & Maren, S. (2008). Differential roles for hippocampal areas CA1 and CA3 in the contextual encoding and retrieval of extinguished fear. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, *15*(4), 244–51.
- Jilg, A., Lesny, S., Peruzki, N., Schwegler, H., Selbach, O., Dehghani, F., & Stehle, J. H. (2010). Temporal dynamics of mouse hippocampal clock gene expression support memory processing. *Hippocampus*, *20*(3), 377–388.
- 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.
- Kalska, H. (2006). Kun muisti pettää, mikä muisteista pettää? *Duodecim*, 1313–1320.
- Kandel, E. R. (2001). The molecular biology of memory storage: A dialogue between gene and synapses. *Science*, *294*(5544), 1030–1038.
- Kim, J. J., & Diamond, D. M. (2002). The stressed hippocampus, synaptic plasticity and lost memories. *Nature Reviews. Neuroscience*, *3*(6), 453–62.
- Ko, C. H., & Takahashi, J. S. (2006). Molecular components of the mammalian circadian clock. *Human Molecular Genetics*, *15*(SUPPL. 2), 271–277.
- Kondratov, R. V., Kondratova, A. A., Gorbacheva, V. Y., Vykhovanets, O. V., & Antoch, M. P. (2006). Early aging and age-related pathologies in mice deficient in BMAL1, the core component of the circadian clock. *Genes and Development*, *20*(14), 1868–1873.
- Korte, M., Carroll, P., Wolf, E., Brem, G., Thoenen, H., & Bonhoeffer, T. (1995). Hippocampal long-term potentiation is impaired in mice lacking brain-derived neurotrophic factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *92*(19), 8856–8860.
- Lamont, E. W., Robinson, B., Stewart, J., & Amir, S. (2005). The central and basolateral nuclei of the amygdala exhibit opposite diurnal rhythms of expression of the clock protein Period2. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *102*(11), 4180–4184.
- Landgraf, D., Wang, L. L., Diemer, T., & Welsh, D. K. (2016). NPAS2 Compensates for Loss of CLOCK in Peripheral Circadian Oscillators. *PLOS Genetics*, *12*(2), 160-190.

- Langmeier, M., Marešová, D., Mourek, J., & Trojan, S. (2006). Amygdala, 32–34.
- Leak, R. K., Card, J. P., & Moore, R. Y. (1999). Suprachiasmatic pacemaker organization analyzed by viral transynaptic transport. *Brain Research*, 819(1-2), 23–32.
- Lecompte, D. C. (1999). Seven , Plus or Minus Two , Is Too Much To Bear : Three (or Fewer) Is the Real Magic Number. *Proceeding of the Human Factors and Ergonomics Society 43rd Annual Meeting*, 289–292.
- Lee, I., & Kesner, R. P. (2002). Differential contribution of NMDA receptors in hippocampal subregions to spatial working memory. *Nature Neuroscience*, 5(2), 162–168.
- Lehman, M. N., Silver, R., Gladstone, W. R., Kahn, R. M., Gibson, M., & Bittman, E. L. (1987). Circadian rhythmicity restored by neural transplant. Immunocytochemical characterization of the graft and its integration with the host brain. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 7(6), 1626–1638.
- Lehman, M. N., & Winans, S. S. (1982). Vomeronasal and olfactory pathways to the amygdala controlling male hamster sexual behavior: Autoradiographic and behavioral analyses. *Brain Research*, 240(1), 27–41.
- Lepage, M., & Achim, A. M. (1993). Episodic memory-related activation in schizophrenia : meta-analysis, (c).
- Lewis, S. (2014). Circadian rhythms: Remembering night and day. *Nature Reviews Neuroscience*, 1.
- Lu, Y., Christian, K., & Lu, B. (2008). BDNF: A key regulator for protein synthesis-dependent LTP and long-term memory? *Neurobiology of Learning and Memory*, 89(3), 312–323.
- Luca, B., Ko, H. W., Jiang, J., Edery, I., Koh, K., Zheng, X., ... Schibler, U. (2007). SCFFbx13 Controls the Oscillation of the Circadian Clock by Directing the Degradation of Cryptochrome Proteins, 316(May), 900–905.
- Malenka, R. C., & Nicoll, R. A. (1993). NMDA-receptor-dependent synaptic plasticity: multiple forms and mechanisms. *Trends in Neurosciences*, 16(12), 521–527.
- Maren, S. (1999). Long-term potentiation in the amygdala: a mechanism for emotional learning and memory. 561 - 567
- Martin-Fairey, C. A., & Nunez, A. A. (2014). Circadian modulation of memory and plasticity gene products in a diurnal species. *Brain Research*, 1581(517), 30–39.
- McNab, F., & Klingberg, T. (2008). Prefrontal cortex and basal ganglia control access to working memory. *Nature Neuroscience*, 11(1), 103–107.
- Miyamoto, Y., & Sancar, A. (1998). Vitamin B2-based blue-light photoreceptors in the retinohypothalamic tract as the photoactive pigments for setting the circadian clock in mammals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 95(11), 6097–6102.
- 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.
- Moore, R. Y., Speh, J. C., & Card, J. P. (1995). The retinohypothalamic tract originates from a distinct subset of retinal ganglion cells. *Journal of Comparative Neurology*, 352(3), 351–366.
- Mulder, C. K., Gerkema, M. P., & Van der Zee, E. A. (2013). Circadian clocks and memory: time-place learning. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, (6), 1–10.
- Mulder, C., Van Der Zee, E. A., Hut, R. A., & Gerkema, M. P. (2013). Time-place learning and memory persist in mice lacking functional Per1 and Per2 clock genes. *Journal of Biological Rhythms*, 28(6), 367–79.

- Nesca, M., & Koulack, D. (1994). Recognition memory, sleep and circadian rhythms. *Canadian Journal of Experimental Psychology = Revue Canadienne de Psychologie Expérimentale*, 48(3), 359–79.
- O’Keefe, J., Burgess, N., Donnett, J. G., Jeffery, K. J., & Maguire, E. A. (1998). Place cells, navigational accuracy, and the human hippocampus. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 353(1373), 1333–40.
- O’Mara, S. M., Commins, S., Anderson, M., & Gigg, J. (2001). The subiculum: A review of form, physiology and function. *Progress in Neurobiology*, 64(2), 129–155.
- Packard, M. G., & Knowlton, B. J. (2002). Learning and memory Functions of the Basal Ganglia. *Annual Review of Neuroscience*, (1), 32.
- Phelps, E. A. (2004). Human emotion and memory: Interactions of the amygdala and hippocampal complex. *Current Opinion in Neurobiology*, 14(2), 198–202.
- Pickard, G. E. (1982). The afferent connections of the suprachiasmatic nucleus of the golden hamster with emphasis on the retinohypothalamic projection. *J.Comp.Neurol.*, 211, 65–83.
- Preckel, F., Lipnevich, A. A., Schneider, S., & Roberts, R. D. (2011). Chronotype, cognitive abilities, and academic achievement: A meta-analytic investigation. *Learning and Individual Differences*, 21(5), 483–492.
- Preitner, N., Damiola, F., Luis-Lopez-Molina, Zakany, J., Duboule, D., Albrecht, U., & Schibler, U. (2002). The orphan nuclear receptor REV-ERB α controls circadian transcription within the positive limb of the mammalian circadian oscillator. *Cell*, 110(2), 251–260.
- Ralph, M. R., Foster, R. G., Davis, F. C., & Menaker, M. (1990). Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. *Science (New York, N.Y.)*, 247(4945), 975–978.
- Reick, M., Garcia, J. A., Dudley, C., & McKnight, S. L. (2001). NPAS2: An analog of clock operative in the mammalian forebrain. *Science*, 293(5529), 506–509.
- Reiter, R. J., Tan, D.-X., Korkmaz, A., Erren, T. C., Piekarski, C., Tamura, H., & Manchester, L. C. (2007). Light at Night, Chronodisruption, Melatonin Suppression, and Cancer Risk: A Review. *Critical Reviews TM in Oncogenesis*, 13(4), 303–328.
- Richter-levin, G., & Akirav, I. (2001). Amygdala-Hippocampus Dynamic Interaction in Relation to Memory Gal Richter-Levin * and Irit Akirav, 22, 11–20.
- Roldan-Valadez, E., García-Lázaro, H., Lara-Romero, R., & Ramirez-Carmona, R. (2012). Neuroanatomy of episodic and semantic memory in humans: A brief review of neuroimaging studies. *Neurology India*, 60(6), 613.
- Ruby, N. F., Hwang, C. E., Wessells, C., Fernandez, F., Zhang, P., Sapolsky, R., & Heller, H. C. (2008). Hippocampal-dependent learning requires a functional circadian system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(40), 15593–8.
- Rusina, R. (2004). Paměť a její poruchy. *Neurologie pro Praxi*, 205–207.
- Savalli, G., Diao, W., Schulz, S., Todtova, K., & Pollak, D. D. (2015). Diurnal Oscillation of Amygdala Clock Gene Expression and Loss of Synchrony in a Mouse Model of Depression, (August), 1–11.
- Scoville, W. B., & Milner, B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences (2000)*, 12(1), 103–113.
- Sherry, D. F., & Schacter, D. L. (1987). The evolution of multiple memory systems. *Psychological Review*, 94(4), 439–454.

- Smarr, B. L., & Jennings, K. J. (2010). A Time to Remember: The Role of Circadian Clocks in Learning and Memory, *128*(3), 283–303.
- Srinivasan, V., Singh, J., Pandi-Perumal, S. R., Brown, G. M., Spence, D. W., & Cardinali, D. P. (2010). Jet lag, circadian rhythm sleep disturbances, and depression: The role of melatonin and its analogs. *Advances in Therapy*, *27*(11), 796–813.
- Stephan, F. K., & Zucker, I. (1972). Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity of rats are eliminated by hypothalamic lesions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *69*(6), 1583–1586.
- Šťastný, F., Vrajlová, M., Tejkalová, S., & et. al. (2003). Stavba a funkcia NMDA receptoru u Schizofrenie, *10*, 7–14.
- Takumi, T., Taguchi, K., Miyake, S., Sakakida, Y., Takashima, N., Matsubara, C., ... Okamura, H. (1998). A light-independent oscillatory gene mPer3 in mouse SCN and OVLT. *EMBO Journal*, *17*(16), 4753–4759.
- Thorpe, C. M., & Wilkie, D. M. (2002). Unequal interval time-place learning. *Behavioural Processes*, *58*(3), 157–166.
- Toh, K. L., Jones, C. R., He, Y., Eide, E. J., Hinz, W. A., Virshup, D. M., ... Fu, Y.-H. (2001). An hPer2 phosphorylation site mutation in familial advanced sleep phase syndrome. *Science (New York, N.Y.)*, *291*(5506), 1040–1043.
- Toshiyuki, H., LeSauter, J., Silver, R., & Venuti, J. M. (2001). Expression of Period Genes Rhythmic and Nonrhythmic Compartments of the Suprachiasmatic Nucleus Pacemaker.
- Tulving, E. (1972). Episodic and semantic memory. *Organization of Memory*. 381-403
- Tulving, E. (1993). What is episodic memory? *Current Directions in Psychological Science*. 67-70
- Tulving, E. (1995). Organization of Memory: Quo Vadis? *The Cognitive Neurosciences*. 839-847
- Tulving, E., & Schacter, D. L. (1990). Priming and Human Memory Systems, 301–306.
- Valdez, P., Ramírez, C., & García, A. (2014). Circadian Rhythms in Cognitive Processes: Implications for School Learning. *Mind, Brain, and Education*, *8*(4), 161–168.
- Valentinuzzi, V. S., Menna-Barreto, L., & Xavier, G. F. (2004). Effect of circadian phase on performance of rats in the Morris water maze task. *Journal of Biological Rhythms*, *19*(4), 312–24.
- Van der Zee, E. A., Havekes, R., Barf, R. P., Hut, R. A., Nijholt, I. M., Jacobs, E. H., & Gerkema, M. P. (2008). Circadian Time-Place Learning in Mice Depends on Cry Genes. *Current Biology*, *18*(11), 844–848.
- Wagner, S., Castel, M., Gainer, H., & Yarom, Y. (1997). GABA in the mammalian suprachiasmatic nucleus and its role in diurnal rhythmicity. *Nature*, *387*(6633), 598–603.
- Wang, L. M.-C., Dragich, J. M., Kudo, T., Odom, I. H., Welsh, D. K., O'Dell, T. J., & Colwell, C. S. (2009). Expression of the circadian clock gene Period2 in the hippocampus: possible implications for synaptic plasticity and learned behaviour. *ASN Neuro*, *1*(3), 139–152.
- Wardlaw, S. M., Phan, T. H., Saraf, A., Chen, X., & Storm, D. R. (2014). Genetic disruption of the core circadian clock impairs hippocampus-dependent memory. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, *21*(8), 417–23.
- Watkins, M. J. (1977). The intricacy of memory span. *Memory & Cognition*, *5*(5), 529–34.

- Willingham, D. B., Greenberg, A. R., & Thomas, C. R. (1997). Response-to-stimulus interval does not affect implicit motor sequence learning, but does affect performance. *Memory & Cognition*, 25(4), 534–42.
- Wyse, C. A., & Coogan, A. N. (2010). Impact of aging on diurnal expression patterns of CLOCK and BMAL1 in the mouse brain. *Brain Research*, 1337, 21–31.
- Ye, H., Yang, K., Tan, X.-M., Fu, X.-J., & Li, H.-X. (2015). Daily rhythm variations of the clock gene PER1 and cancer-related genes during various stages of carcinogenesis in a golden hamster model of buccal mucosa carcinoma. *Oncotargets and Therapy*, 8, 1419–1426.
- Yoo, S. H., Mohawk, J. A., Siepk, S. M., Shan, Y., Huh, S. K., Hong, H. K., ... Takahashi, J. S. (2013). Competing E3 ubiquitin ligases govern circadian periodicity by degradation of CRY in nucleus and cytoplasm. *Cell*, 152(5), 1091–1105.
- Zola-Morgan, S., Squire, L. R., & Amaral, D. G. (1986). Human amnesia and the medial temporal region: enduring memory impairment following a bilateral lesion limited to field CA1 of the hippocampus. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 6(10), 2950–2967.
- Zueger, M., Urani, A., Chourbaji, S., Zacher, C., Lipp, H. P., Albrecht, U., ... Gass, P. (2006). mPer1 and mPer2 mutant mice show regular spatial and contextual learning in standardized tests for hippocampus-dependent learning. *Journal of Neural Transmission*, 113(3), 347–356.