



# CIRKADIJALNI SISTEM: MREŽA NEURONA SA SUPRAHIJAZMATIČNIM JEDROM NA VRHU HIJERARHIJSKE ORGANIZACIJE

Olivera Stanojlović <sup>1</sup>, Nikola Šutulović <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Institut za medicinsku fiziologiju "Rihard Burijan", Laboratorija za neurofiziologiju, Beograd, Srbija

**Correspondence:** solja@afrodita.rcub.bg.ac.rs

## Abstract

Biological rhythms represent series of events occurring repeatedly in the same order and time intervals in all living beings including humans. All eukaryotes show variabilities in the genetic (rhythm of DNA and RNA synthesis, mitosis rhythm), biochemical (metabolic rhythms) and physiological (rhythm of synthesis and secretion of certain hormones, menstrual cycle, rhythmic body temperature changes, heart rate, breathing frequency, the sleep/wake cycle, work and rest, etc.) functions by enhancing and reducing their activities throughout cycles. Circadian oscillator genesis is based on combination of negative feedbacks, clock gene expression and translation of proteins that control temporal sequences of cell metabolic processes. Clock genes have been discovered: per (periodic) and tim (timeless), and they encode the information for synthesis of two proteins named the same as previously mentioned genes. These proteins accumulate in the cell during the night and degrade during day. Their concentration oscillates in 24h long cycles, synchronously with the circadian rhythm. With excellent precision, our internal clock regulates critical functions such as behavior, hormone secretion, sleep, body temperature, metabolism, and other functions. By doing this they adjust the physiological functions to different stages of the day, increase the activity of SCN neurons that regulate wakefulness/ slow wave sleep and control the endogenous clock. The pineal gland is in direct contact with the endogenous clock and produces hormone melatonin that causes drowsiness. The melatonin concentration is decreased or is not measurable during the day. Light, pineal gland and melatonin regulate the sleep cycle, and each disturbance of this components leads to dysfunctions.

## Keywords:

biological rhythms,  
endogenous clock,  
pineal gland,  
melatonin



## Sažetak

Pojave koje se u životu ponavljaju istim redom i u istim vremenskim intervalima nazivaju se biološkim ritmovima. Sve eukariote pokazuju promenu u ispoljavanju genskih (ritam sinteze DNA i RNA, ritam mitoza), biohemijskih (metabolički ritmovi) i fizioloških (ritam sinteze i sekrecije endokrinih hormona, menstrualni ciklus žene, ritmične promene temperature, otkucaji srca, frekvencija disanja ciklus budnost i spavanje, rad i odmor i dr) aktivnosti pojačavajući i smanjujući svoje delovanje kroz cikluse. Generisanje cirkadijalnog oscilatora je bazirano na isprepletanim negativnim povratnim spregama, ekspresiji gena za vreme (eng. *clock gene*) i translacijski proteini. Pronađeni su geni per i tim (per/tim/tau; dbt) koji kodiraju proteine: per (*periodic*) i tim (*timeless*). Ovi proteini se akumuliraju u ćeliji tokom noći i degradiraju tokom dana, osciluju tokom 24-časovnog ciklusa, sinhrono sa cirkadijalnim ritmom. Sa izvrsnom preciznošću naš unutrašnji sat reguliše kritične funkcije kao što su ponašanje, nivo hormona, spavanje, temperaturu tela, metabolizam i dr. To je način na koji se prilagođavaju fiziološke funkcije različitim fazama dana, povećavaju aktivnost neurona u suprahijazmatskom jedru (SCN) koji regulišu budnost/STS i kontrolisu endogeni časovnik. Pinealna žlezda je u direktnoj vezi sa endogenim satom i luči hormon melatonin koji izaziva pospanost. Melatonin u krvi je odsutan ili nemerljiv tokom dana. Svetlost, pinealna žlezda i melatonin regulišu ciklus spavanja i svako narušavanje dovodi do disfunkcija.

### Ključne reči:

biološki ritmovi,  
endogeni časovnik,  
pineala žlezda,  
melatonin

## Uvod

Pojave koje se u životu ponavljaju istim redom u istim vremenskim intervalima se nazivaju biološki ritmovi. Ritmovi nisu samo pasivna posledica cikličnih fluktuacija u okruženju, već složena mreža koja obuhvata cirkadijalni sat, sinhronizujuće ulaze, višestruke centralne i periferne oscilatore i različite izlaze. Biološki ritmovi su procesi koji pokazuju ciklične varijacije kroz vreme u opsegu od milisekunde do godine i vodene su interakcijom pozitivnih i negativnih transkripcijsko/translacijskih povratnih sprega, koje uključuju specifične gene i proteine. Mreža neurona, žlezda i tkiva omogućava optimalnu vremensku organizaciju bioloških funkcija i dovodenje endogenog ritma u odnos sa periodičnim promenama u okruženju (1,2). Biološki sat je unutrašnji fizički sistem koji omogućava organizmu da živi u harmoniji sa ritmom prirode.

## HRONOBILOGIJA: nauka o biološkim ritmovima

Interesovanja za hronobiologiju datiraju iz davnih vremena. Aristotle je primetio da su ovarijski morskih ježeva većih promera u vreme punog meseca nego obično (3). Hippocrates (460–377 p.n.e.) je savetovao saradnike da prate regularnost i neregularnost telesnih funkcija ili navika i davao im savete da obrate pažnju na promene u simptomima u dobrim i lošim danima kod zdravih ljudi i pacijenata (4). Astronom Jean Jacques d'Ortous de Mairan je u 18. veku opisao prvi eksperimentalni rad koji je pokazao da postoji cirkadijalni ritam kod biljaka (5). Mairan je zapisao da je mimoza (*Mimosa pudica*) sposobna da „oseti sunce bez mogućnosti da ga vidi”, što ukazuje na postojanje endogenog ritam i bez prisustva spoljašnjih faktora.

Otvaranje i zatvaranje listova ne zavisi od sunčeve svetlosti, jer je ritam opstajao i u zatamnjenoj kartonskoj kutiji.

Carl Linnaeus, otac moderne klasifikacije biljnih i životinjskih sistema (taksonomija) je dizajnirao vrt 1751 god. (engl. *flower clock*) koji se sastojao od cveća sa fiksним vremenima za otvaranje i zatvaranje latica svakog dana, bez obzira na vremenske uslove ili sezonu. Raspoređene su u logičnom nizu cvetanja, te pogledom kroz prozor, u zavisnosti da li su listovi biljaka otvoreni ili zatvoreni moglo se odrediti tačno vreme. Leva strana sata (6 – 12 h pre podne) pokazivala je vreme otvaranja latica, dok su sa desne strane (12 – 6 h posle podne) biljke pokazivale vreme kada su se latice zatvarale (6-8).

Za proučavanje evolutivne adaptacije na specifične uslove primer iz prirode je riba *Eyeless Mexican* koja živi u mraku, kao što su vode u pećinama ili dubokim morema gde su hrana i svetlost ograničeni. Da bi sačuvala energiju, čuvajući  $O_2$  (do 27%), evolutivno je eliminisala cirkadijalni ritam i postala riba bez očiju. Ista vrsta ribe koja živi u površinskim vodama, ponaša se u skladu sa cirkadijalnim ritmom, troši više  $O_2$  i ima veći metabolizam (9). Evolutivne razlike u dnevnim ritmovima se ogledaju u činjenici da su neke životinje noću aktivne (bubašvaba, sova, miš i dr), a neke spavaju danju (gušter, muva, ptice i dr).

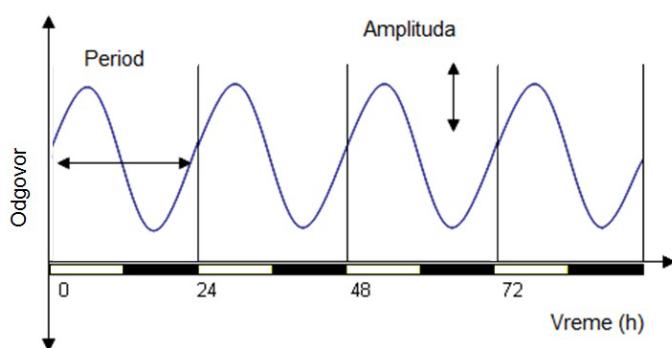
Reinberg A. je 1992. god. (10) opisao trajanje menstrualnog ciklusa kod devojaka koje su tri meseca boravile u pećini, u mraku, bez uticaja spoljašnjeg svetla. Ciklus je bio skraćen na 25,7 dana i bila je potrebna cela godina da se ciklus normalizuje i vrati na pređasnijih 28 dana.

Iz svih primera se vidi da eukariote pokazuju promenu u ispoljavanju genskih (ritam sinteze DNK i RNK i ritam mitoza), biohemijskih (metabolički ritmovi) i fizioloških (ritam sinteze i sekrecije endokrinih hormona, menstrualni ciklus žene, ritmične promene temperature, otkucaja srca, frekvencija disanja, ciklus budnost/

spavanje, rad i odmor i dr.) aktivnosti koje se pojačavaju ili smanjuju kroz cikluse.

## Biološki ritmovi

Ciklus je najkraći deo ritma koji se ponavlja. Ponavljanje ciklusa čini ritam. Vreme trajanja jednog ciklusa označava se kao period (**Slika 1**). Telesni ritmovi su biološki procesi koji pokazuju ciklične varijacije u vremenu, od nekoliko sati do godine. Ako telesni ritmovi pokazuju sličan dnevni obrazac za ljude sa različitim stilovima života, ovi ritmovi su onda deo naše prirode, a ne našeg vaspitanja. Dnevni ritmovi ne zavise od signala iz spolašnjeg sveta, već su organizovani unutar tela sistemom cirkadijalnog vremena (latin. *circa-* oko; *dien-* dan, Halberg, 1959) (11). Cirkadijalni ritam ima dve osnovne karakteristike: endogena ritmičnost sa periodom od oko 24h, koja se nastavlja nezavisno od oscilacija spolašnjih faktora i sposobnost da svoj vremenski period pomeri (unapred ili da kasni) pod uticajem spoljnih faktora (8,11-14).



**Slika 1.** Ciklus je najkraći deo ritma koji se ponavlja. Ponavljanje ciklusa čini ritam. Vreme trajanja jednog ciklusa označava se kao period. Ciklus se može pomerati unapred ili unazad.

## Suprahijazmatično jedro (SCN): moždani sat

Ritmičnost je aktivan proces vođen bilateralnom strukturom, endogenim pejsmejkerm, moždanim satom ili ontogenetskim neuralnim programom koji se nalazi u suprahijazmatičnom jedru (SCN) u prednjem hipotalamusu, na vrhu optičke hijazme i pored treće moždane komore. Parvocelularni SCN se sastoji od 50000 neurona kod ljudi i dobijaju informacije sa retine. Hipotalamus (1% mozga) je središte mnogih fizioloških funkcija i upravlja autonomnim nervnim sistemom, preko hipofize endokrinim, a kao deo limbičkog sistema aktivira emocije i motivaciju. Cirkadijalni sistem se može koncipirati kao sistem hijerarhije sa SCN-om na vrhu piramide. Da bi se održala fazna povezanost unutar i između tkiva tela, kao glavni pejsmejker, SCN sinhronizuje druge oscilatore u mozgu i telu. SCN deluje kao dirigent orkestra koji meri vreme i usklada ritmove drugih tkiva, sinhronizuje i održava cirkadijalne programe (ekspresija gena/proteina, električna aktivnost i metabolizam) (8,15-17).

U SCN se nalaze neurosekretorne ćelije koje se razlikuju u neurohemiskom sadržaju, a u SCN možemo

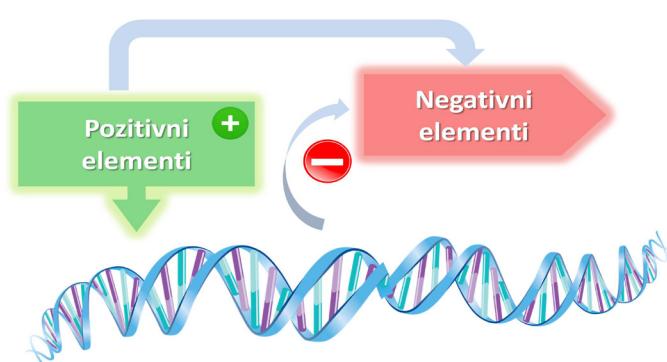
razlikovati: <sup>1)</sup> jezgro (*core*) i <sup>2)</sup> ljsku (*shell*).

**Ventrolateralni deo** (*core*, jezgro), prima glavne glutaminergičke projekcije iz monosinaptičkog retino-hipotalamičnog puta (engl. *retinohypothalamic tract*, RHT) kao i aksonске projekcije iz genikulatnih jedara talamusu (genikulo-hipotalamički trakt, GHT) kao i serotonergičke projekcije iz medijalnih jedara *nc. raphe*. Brojni neurotransmiteri su pronađeni u neuronima SCN, a među glavnima se izdvajaju: neuropeptid Y, GABA, NO, gastrični oslobođajući peptid (GRP), adenilat ciklaza-aktivirajući polipeptidi (PACAP), vazoaktivni intestinalni peptid (VIP) i dr. (8,18,19).

**Dorzomedijalni deo** (*shell*, ljska) predstavlja ulaz aferentnih vlakana iz limbičkog sistema (hipokampusa, septuma, hipotalamusu i dr), prvenstveno GHT i sadrži ritmičke neurone kao i neuropeptide arginin, vazopresin, angiotenzin II, somatostatin, met-enkefalin, GABA i dr. Ovi ulazi menjaju ritam SCN pejsmejkera tokom ciklusa dan/noć. U neuronima SCN mogu se naći receptori za melatonin (19-21).

Na ćelijskom nivou sat je kontrolisan kompleksnom mrežom gena i proteina koji uključuju jedan drugog u zavisnosti od spolašnjih faktora. Generisanje cirkadijalnog oscilatora je bazirano na isprepletanim negativnim povratnim spregama koje dovode do ekspresije gena za vreme (engl. *clock gene*) i translacije proteina koji dozvoljavaju autonomnu regulaciju 24-h ritma. Početna aktivacija gena je regulisana poslednjom sekvencom autoregulatorne povratne sprege u kojoj jedan ciklus traje 24 h. Iz oscilatora brojnim izlaznim putevima (električnim, hormonskim i dr.) se kontrolisu specifična ponašanja. Adaptacija i sinhronizacija sa geofizičkim parametrima omogućava organizaciju ključnih metaboličkih procesa na mnogo eftekasniji način (8,17,22).

Američki naučnici Hall JC, Rosbash M i Young MW su dobitnici Nobelove nagrade za fiziologiju ili medicinu za 2017. godinu, jer su izolovali gene koji kontrolisu normalan dnevni biološki ritam koristeći voćnu mušicu kao model. Pokazali su da geni kodiraju proteine koji se akumuliraju u ćeliji tokom noći, a zatim se degradiraju tokom dana i povratnom spregom izazivaju inhibiciju gena (**Slika 2**). Pažljivo kalibriran cirkadijalni ritam prilagođava naše potrebe različitim fazama dana. Ovaj ritam nije precizno izbaždaren na 24h i mora se povremeno ponovno

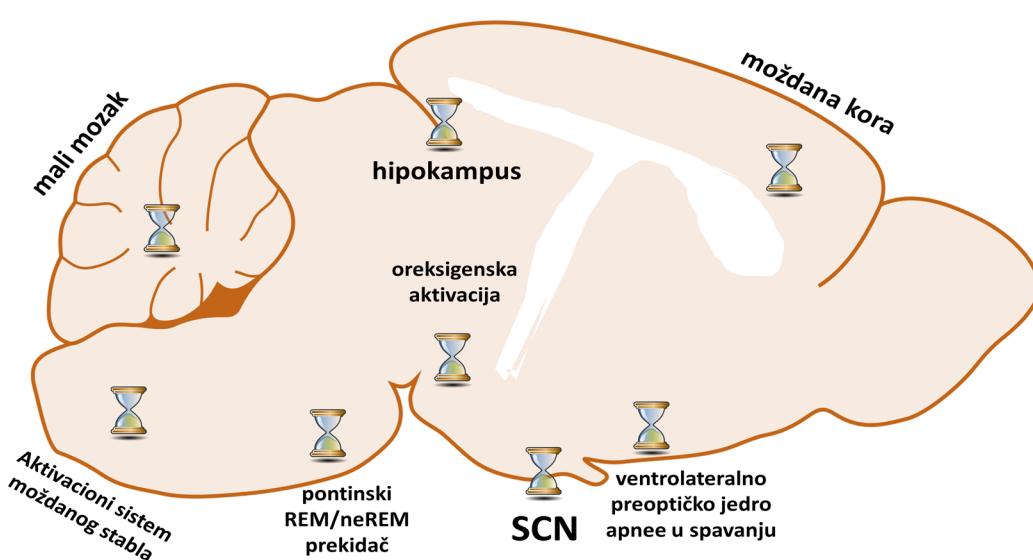


**Slika 2.** Uprošćen prikaz isprepletanih negativnih povratnih spregi i ekspresija gena za vreme (*Clock gene*).

podesiti. Kontrola formiranja i izlučivanja melatonina je glavna izlazna funkcija SCN-a.

Sinhronizacija hiljadu individualnih neuronskih

satova jedan sa drugim se mora ostvariti, tako da kao grupa mogu slati nedvosmislene dnevne signale do ostatka mozga i tela (22) (Slika 3).



**Slika 3.** Lokalni satovi u CNS-u (moždana kora, hipokampus, hipotalamus, talamus, cerebelum i dr.) imaju iste gene i sadrže iste molekularne i električne signale kao SCN.

## Periferni oscilatori

Razvojem tehnika za vizuelizaciju omogućene su sofisticirane analize SCN. Molekularna baza cirkadijalnih ritmova ukazuje da je svaka ćelija u telu kompetentni cirkadijalni sat. Što znači da SCN nije jedini, ali je glavni časovnik mozga koji koordinira funkciju svih drugih satova lociranih u tkivima mozga i tela. Lokalni satovi se moraju ponovo sinhronizovati preko glavnog moždanog sata. Lokalni satovi u CNSu (moždanoj kori, hipokampusu, hipotalamu, talamu i dr.) imaju iste gene kao i SCN, te specifičnom cirkadijalnom transkripcijom određuju lokalne kapacitete za gensku ekspresiju enzima, dok su električnim signalima u vezi sa glavnim moždanim satom. Periferni organi (jetra, bubrezi, endokrine žlezde, srce i dr.), takođe imaju lokalne satove (gene) i koriste istu bazu molekula kao SCN, tako da se lokalnom genskom ekspresijom sinhronizuju i usklađuju sa SCN. Periferni oscilatori (lokalni satovi) rade nezavisno i optimizuju funkcije svakog organa, imaju adaptivnu ulogu i upravljaju promenama predviđajući cirkadijalnu tranziciju između spavanja i budnosti. Procenjuje se da je između 2% i 10% svih otkrivenih gena u većini perifernih tkiva ritmički aktivno (8,23).

## Sinhronizujući ulaz: foto-neuralni receptori

Više od 150 godina staro klasično biološko znanje da sisari sadrže dve klase fotoreceptora čepice i štapiće sa ulogom u svesnom viđenju je prevaziđeno. Ranih 2000. postalo je jasno da postoji još jedna klasa fotoreceptora, jer u slepih ljudi bez vizuelnih elemenata i dalje postoji osetljiv cirkadijalni ritam. To je ukazivalo da postoji biološki anatomski put važan za nevizuelne funkcije (24-26). Novootkrivena vrsta fotoreceptora su retinalne ganglijske

ćelije (engl. *retinal ganglion cells*, RGC) ili intrizični foto-receptori, fotosenzitivne melanopsin-ganglijske ćelije koje učestvuju u nevizuelnim funkcijama. Predstavljaju retku subpopulaciju ganglijskih ćelija (< 5%), a klasifikovane su u pet vrsta (M1 - M5). Jedna od glavnih karakteristika je to da poseduju 5 do 10 puta veću dendritsku arborizaciju od klasičnih ćelija. Ove fotoreceptorske ćelije konvertuju elektromagnetno zračenje u transmembranski receptorski potencijal koji se dalje projektuju do cirkadijalnog pejsmajkera. Sa otkrićem ovih ganglijskih ćelija uvedena je nova terminologija: vizuelni i nevizuelni putevi (anatomski putevi i strukture koji nisu uključeni u formiranje lika). RGC su jedini neuroni čiji se aksoni projektuju do mozga. Fotopično resetovanje podrazumeva up regulaciju clock gena u okviru pojedinačnih ćelija SCN (14,27- 29).

## Primarna uloga RGC i melanopsina

Ganglijski fotoreceptori šalju nesvesne, nevizuelne informacije kroz RHT do SCNa i omogućavaju poravnanje unutrašnjeg biološkog vremena sa spoljnim iz okruženja i sinhronizuju fiziološke ritmove. Obaveštavaju mozak o nivou ambijentalnog osvetljenja. Projekcije ganglijskih ćelija koje pripadaju anatomsom nevizuelnom putu učestvuju i u izvođenju nesvesnih vizuelnih refleksa kao što je pupilarna kontrakcija (21,29). Iako su manje osetljive od klasičnih fotoreceptora, dendritsko rašireno polje RGC sadrži melanopsin koji direktno odgovara na svetlost te gradi „fotoreceptivnu mrežu“. Fotopigment melanopsin je dobio ime po ćelijama iz kojih je prvo izolovan-dermalne melanofore iz kože žabe (*Xenopus laevis*). Maksimalna aktivnost iskorišćavanja fotopigmenta melanopsina zavisi od talasne dužine svetlosti, a to je 480 nm (plava boja). U sisara melanopsin se nalazi u unutrašnjem sloju retine, kao

i RHT. Melanopsin je član familije opsina i vezuje se za G-proteinski receptor. Odgovor na svetlo u RGC se dramatično razlikuje od štapića i čepića a najvažnija razlika je ta što svetlo kod klasičnih fotoreceptora izaziva hiperpolarizaciju, a kod novootkrivenih ganglijskih ćelija depolarizaciju. Ganglijski fotoreceptori imaju mnogo veći prag i zahtevaju više svetlosti od čepića i štapića. Sa druge strane odgovor RGC je jači i prolongirani, tonički odgovor (20 puta trajniji od štapića ili 100 puta trajniji od čepića) (29-31).

Monosinaptički put od retine do SCN

Postoje dva puta kojim se endogeni sat snabdeva informacijama o količini svetla.

**1) Retino-hipotalamičkim putem (RHT)** se prenosi svetlost sa fotosenzitivnih RGC koje direktno projektuju aksone u monosinaptički put i resetuju SCN. SCN preko glutamata i NMDA receptora čini prvi korak u signalnoj transdukciji (IP3 i RyR indukuju influks  $\text{Ca}^{2+}$ ).

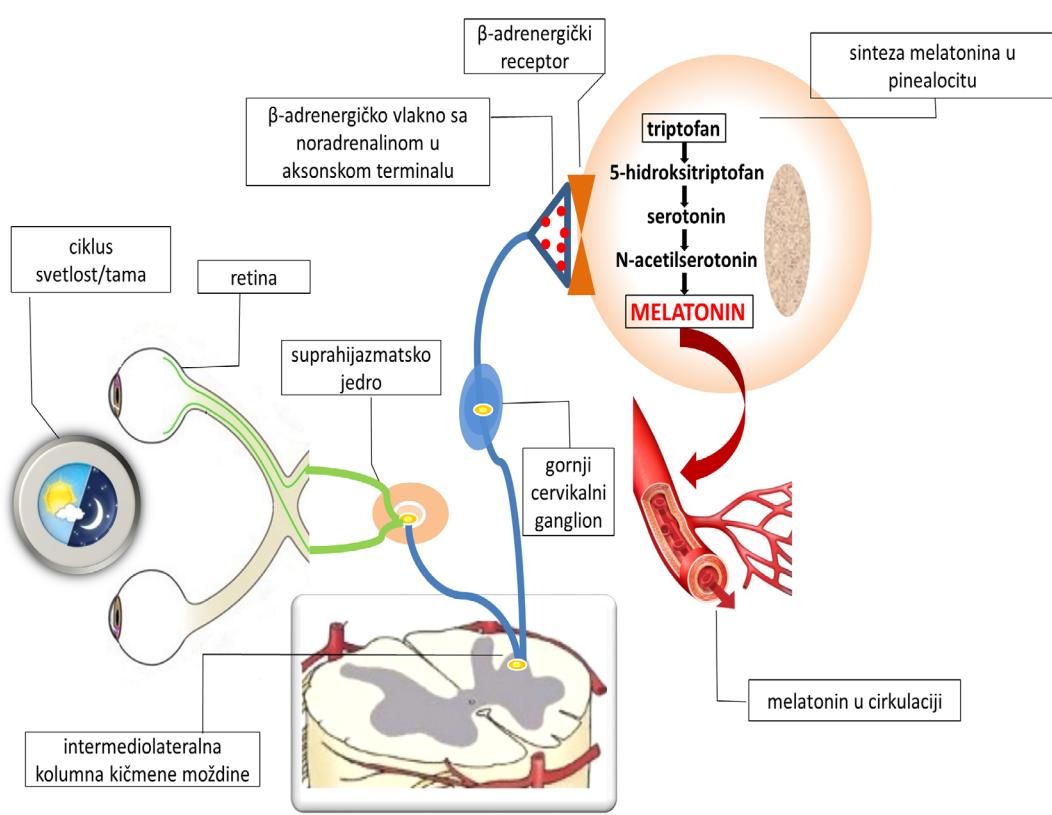
**2) Indirektni put je genikulo-hipotalamički trakt (GHT)** ili prednji put. Indirektno se nevizuelni signali prenose do SCN sa intergenikulatnih jedara talamus (IGL), optičkog trakta, *nc. raphe* (5-HT) pomoću neuropeptida Y ili hormonalnim/metaboličkim signalima.

## Polisinaptički put SCN-epifiza

Indirektna povezanost sa hipokretinsnim čelijama u lateralnom hipotalamusu se ostvaruje preko intermediolateralnog simpatičkog dela kičmene moždine i gornjeg cervikalnog gangliona (engl. *superior cervical ganglion*). Simpatičkim postganglijskim vlaknima, preko  $\beta$  receptora je inervisana pinealna žlezda (**Slika 4**). Prekursor za sintezu melatonina je esencijalna aminokiselina triptofan koja se unosi hranom u organizam. Biohemijskim enzimskim aparatom pinealne čelije transformišu triptofan u serotonin („hormona sreće“), zatim u N-acetil serotonin do melatonina (N-acetil-5-metoksitriptamin).

## Epifiza: centar mozga?

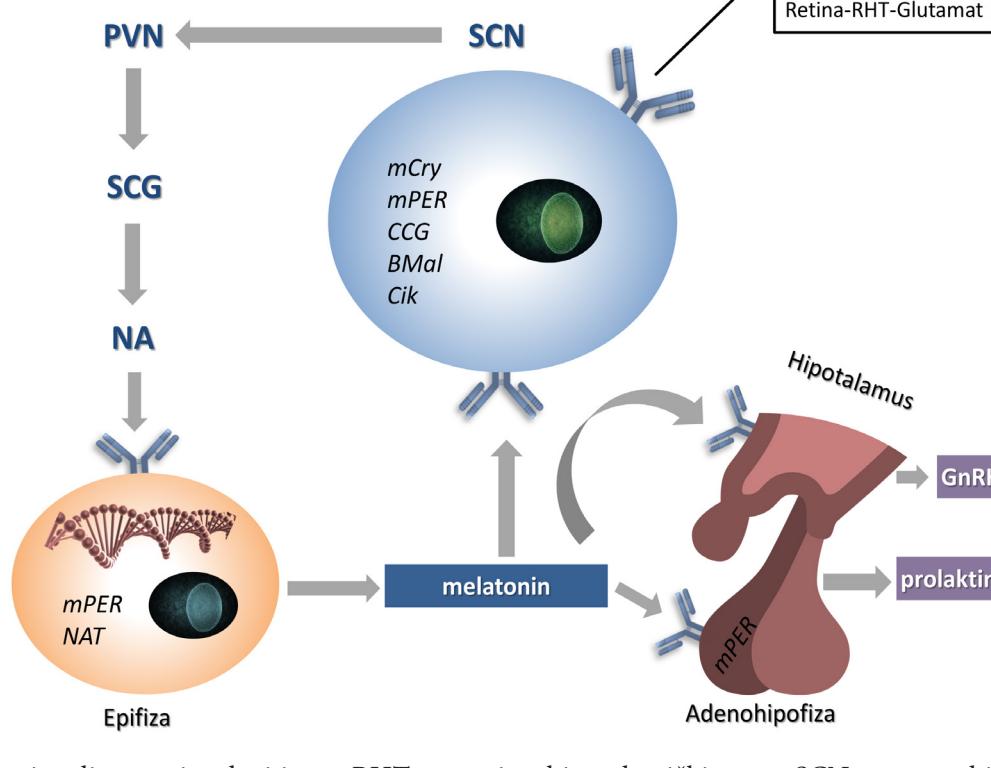
Rimski lekar Klaudije Galen (129 – 200. g.n.e.) iz Pergamona, lekar i filozof grčkog porekla, je opisao epifizu u ljudskom mozgu kao žlezdu (analogno limfnim žlezdama) i imenovao je konarion (lat. „*conarium*”), oblik konusa bora. Škole ezoterije zastupaju mišljenje da je epifiza centar mozga, veza između fizičkog i spiritualnog sveta. Istočnjaci su povezivali epifizu s unutrašnjim, trećim okom kao deo mističnog i ezoteričnog koncepta. Gurui (u hinduizmu) su komentarisali položaj epifize na čakri ier



**Slika 4.** Polisinaptički put SCN – epifiza

svi psihički sistemi imaju svoje fizičke aspekte na telu, te na jednoj od sedam čakri kao centar duhovne i psihičke energije i deo „Ajna čakre“ je fizički ekvivalent - epifiza (32). Veliki jogini objašnjavaju da je epifiza prijemnik i odašiljač suptilnih vibracija koje kroz kosmos pronose misli i psihičke fenomene, govore o telepatiji kao jednoj fizičkoj snazi za komunikaciju mislima (33). Hrišćanski spiritualisti su vremenom prekrojili učenja o epifizi u vidovitost i intuiciju, portalu svesnosti ili „vrata percepcije“ (34). Francuski filozof René Descartes je istraživao epifizu i nazvao je „glavnim sedištem duše“. Dualizam sa Descartesom (1637) smatra da su um i mozak nezavisni, poznatim iskazom *Cogito ergo sum* („Mislim, dakle postojim“), tvrdi da um ima primat nad materijom i da su mentalne aktivnosti razdvojene od fizičkih događaja (18,19, 31-34).

Pinealna žlezda je endokrina žlezda locirana u centru mozga i na krovu III moždane komore veličine zrna graška (5-8 mm), koja teži svega 100-180 mg. Naziv „pinealna“ dolazi od engleske reči „pine cone“ (borova šišarka). Pretvara svetlosne signale u nervne ili humorale odgovore (foto-neuro-endokrini transdžuser). Embrionalno poreklo epifize je od krova diencefalona. Sagrađena je od pinealocita (95%) i astrocita (5%), sadrži pesak (acervuli, corpora aranacea) ili moždanu prašinu ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , Al i F - najviši nivo fluorida u celom telu). U pinealocitima su od rođenja prisutne granularne kvarcne deponije i gustina se povećava sa godinama (Slika 5). Izlaganje elektromagnetskim poljima (kućni aparati, stubovi za struju i dr.) značajno redukuje funkciju epifize (34-36).



**Slika 5.** Ulazni signali na pinealocitima. RHT – retino-hipotalamički put, SCN – suprahijazmatsko jedro, PVN – paraventrikularno jedro, SCG – gornji cervikalni ganglion, NA – noradrenalin, GnRH – oslobađajući faktor gonadotropina

### Hormon melatonin: pinealni faktor ili ekstrakt

Lerner A. i saradnici su otkrili 1958. g. (31) u goveđoj pinealnoj žlezdi (*epiphysis cerebri*) biološki molekul, melatonin koji se sekretuje 2 - 3 h pre spavanja kao hormon mraka. Ponaša se kao endokrini marker za mrak i fotoperiodičnost: signalizira vreme u toku dana (funkcija „sata“) i vreme u godini (funkcija „kalendara“). Uloga melatonina je istražena kod sisara, ptica, vodozemaca, gmizavaca, riba i dr., i u životinjskom svetu melatonin ima funkcije u polnom ponašanju, rastu krvzna, kamuflaži, zimskom snu i dr. Kod riba i vodozemaca ova žlezda ima direktnu fotoreceptivnu funkciju („treće oko“).

U fiziološkom smislu, melatonin se ponaša kao humorali signal, hemijski glasnik, koji obezbeđuje visoku

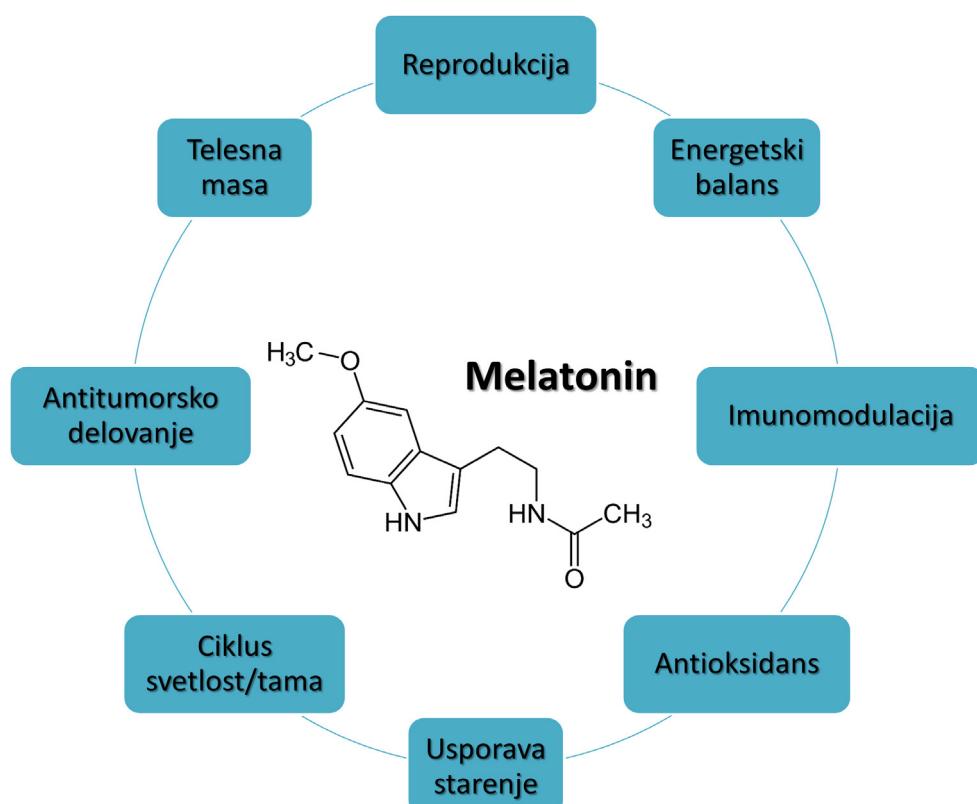
preciznost u detekciji noćnog perioda. Najintenzivnija sekrecija je u razdoblju od 2 - 4 h ujutro u vreme REM faze spavanja. Osim u krvi i cerebrospinalnoj tečnosti (koncentracije 20-30 puta više nego u krvi), melatonin je prisutan u sluzi, urinu, Graff folikulu, spermii, amnionskoj tečnosti i majčinom mleku, pljuvački, prednjoj komori oka i dr.

Uloga melatonina je u regulaciji endokrinih i sezonskih funkcija, reprodukciji (određuje polno sazrevanje i pravi momenat za početak puberteta), rasta, apetita, telesne težine, kao i ciklusa budnost spavanje („kapije za spavanje“). Povratnom spregom melatonin podešava biološki sat kroz efekte na svojim receptorima u SCN, a kao endokrini marker za mrak, modulira endogeni sat. Poznati su i antioksidativni, imunomodulatorni i antiinflamatorni efekati melatonina što ukazuje da spavanje ima blagotvorni

efekat. Melatonin deluje antidepresivno, pomaže u lečenju Alchajmerove bolesti, štiti od radijacije, jača imunološki sistem, usporava starenje (34,35) (Slika 6).

Receptori za melatonin u CNS-u se nalaze u cerebelumu, SCN, čepićima, ganglijskim ćelijama, hipotalamusu, hipofizi, u centralnim dopaminergičnim putevima (*substantia nigra*, ventralna tegmentalna oblast, *nc. accumbens*, *caudatus - putamen*) i dr., dok receptori van CNS-a se nalaze na limfocitima, epitelu prostate, spermatozoidima i ovarijumima, miometrijumu, mukozi i submukozi duodenuma i kolona, trombocitima i imunim ćelijama. Ove receptore sadrže i pluća, srce, aorta, koronarno tkivo, adipociti i dr. Melatonin interreaguje sa membranskim

MT<sub>1</sub> i MT<sub>2</sub> (Mel 1a i Mel 1b) receptorima koji su lokalizovani na plazma membranama kao i intracelularnim proteinama kao što su kinon reduktaza 2, kalmodulin, kalretikulin i tubulin (36,37). Receptori se mogu sintetisati kada je čovek opušten i relaksiran, mogu se sintetisati za vreme meditacije, npr. koncentracije melatonina u plazmi se povećavaju nakon tri meseca vežbanja joge. Faktori koji inhibiraju sintezu melatonina su: svetlost, pa čak i slaba svetlosti lampice na detektoru za dim, elektromagnetsko polje, infracrveni energetski impulsi, mobilni telefoni, mikrotalasni uređaji, jako magnetno polje, akumulacija fluora, Alchajmerova bolest, stres, velike visine, neravnoteža u ishrani (34-37).



Slika 6. Uloge melatonina. Hormon melatonin je pinealni faktor ili ekstrakt, hormon mraka sa brojnim funkcijama.

Izlazi iz SCN

SCN održava koordiniranu cirkadijalnu oscilaciju u lučenju svih hormona (i melatonina), negativnom pro-vratnom spregom proizvodi endokrinog sistema igraju značajnu ulogu u faznom resetovanju ulaznih signala u SCN. U stabilnim uslovima neki regioni SCN izražavaju nisku amplitudu u ekspresiji gena dok drugi proizvode visoke oscilacije. Prostorno-vremenski obrazac aktivnosti SCN se ispoljava svakodnevno, poput sprovodnog sistema srca. Vraćanje signala na početno stanje menja tajming ovog niza (unapred ili unazad), ali sekvensije ostaju iste. Osim efekata SCN na epifizu i melatonin, eferentni signali SCN do ciljanih regiona mozga su putem neurotransmitera (GABA i glutamat). Brojnim projekcijama na hipotalamusu (dorzomedijalna, preoptička, *nucleus arcuatus* i paraventrikularna jedra i drugo). SCN orkestrira centrima za spavanje, glad, žed i dr. Aksoni iz SCN inervišu i talamus. Na periferiji, komunikacija između SCN i ćelijskih satova

se dešava posredstvom autonomnog nervnog sistema i to putem parasimpatičkih veza (u odmaranju) i simpatičkih (borba ili beg) (1,14,38-40).

„Zeitgebers” - sinhronizacija

Aschoff je 1960. godine uveo termin davalac vremena ili „Zeitgebers” koji se koristi da se opišu spoljašnji faktori koji uskladjuju biološki sat sa okolnim svetom (38). Cirkadijalni sat zahteva spoljašnji ulaz kako bi se fazno pomjerio i na taj način sinhronizovao (resetovanje) sa okruženjem, ili dovođenje endogenog ritma u vezu sa spoljnjom sredinom. Spoljašnji faktori koji podešavaju endogeni cirkadijalni ritam su: <sup>1)</sup> Fotonski (vizuelni) i <sup>2)</sup> Nefotonski (nevizuelni).

Vizuelni spoljašnji faktori

Iako su ritmovi genetski programirani na 24 h, za tačno ponavljanje ritmova je potrebno izlaganje Suncu. Zapravo svetlost je najmoćniji Zeitgeber glavnog

cirkadijalnog oscilatora, resinhronizacija endogenog sata. Adekvatna ekspozicija Sunčevoj svetlosti (intenzitet, talasna dužina i trajanje) u određeno vreme je neophodna za biološko funkcionisanje mnogih sistema: sinteza vitamina D i homeostaza  $\text{Ca}^{2+}$ , bilirubin iz kože i mukoza u novorođenčeta se povlači, kožne bolesti (vitiligo, psorijaza, kožni T-ćelijski limfom i atopijski dermatitis) se leče izlaganjem svetlosati određene talasne dužine, pupilarna mioza, srčana frekvencija se menja u zavisnosti od intenziteta svetla, alteracija budnosti i spavanja, telesna temperatura, sekrecija melatonina, kognicija, genska ekspresija i dr (39,40).

### Nevizuelni spoljašnji faktori

Nefotonski (nevizuelni) faktori su hladnoća i toplota, socio-kulturni kontakti, buka / tišina, plima / oseka, godišnja doba, jačina elektromagnetskog polja, vežbe, mesečeve faze i dr. Vremenski raspored unosa hrane ima uticaj na ekspresiju mnogih cirkadijalnih gena u jetri, bu

```
brezima, pankreasu, srcu i dr. Rotacija zemlje oko svoje ose uslovjava ritmičku smenu svetlosti i tame, odnosno dana i noći, spavanja i budnosti na svakih 24 h, zatim smjenjivanje faza aktivnosti i odmora od jednog do drugog izlaska, odnosno zalaska sunca. Kruženje zemlje oko sunca uslovjava smenu godišnjih doba i sezonske promene koje se posebno vide u životinjskom svetu (navigacija i seoba ptica, parenje, podizanje mladih, hibernacija i dr.) što predstavlja cirkaanularni ritam. Plima i oseka su uzrokovane kruženjem Meseca oko Zemlje. Jedan lunarni dan traje 24,8 h u laboratorijskim uslovima, duži je od solarnog za 51 min, što je razlog da svakog dana plima kasni 51 minut. Cirkalunarni mesec traje oko 29 dana (38-40).
```

Opisani su sledeći bioritmovi: <sup>1)</sup> Cirkadijalni (diurni, dnevni, 24-satni); <sup>2)</sup> Ultradnevni ritam je kraći od 24 h; <sup>3)</sup> Infradnevni ritam koji nastaje u periodu dužem od 24 h; <sup>4)</sup> Cirkaanualni ritam (godišnji); <sup>5)</sup> U toku života (rođenje, detinjstvo, pubertet, adolescencija, menopauza, smrt).

## Hronopatologija i Hronoterapija

Hronobiološki balans omogućava zdravlje i zdravo starenje. Disbalans ciklusa dovodi do hronopatologije i niza poremećaja kao što su metabolički poremećaji (gojaznost i dijabetes), kardiovaskularne bolesti, tromboza, kancer, povišenje kortizola i medijatora inflamacije.

### Hronopatologija: bolesti sa poremećenim ciklusom

Stanja sa poremećenim ciklusom koja čine hronopatologiju su:

- *Jetlag* je desinhronizacija (disritmija) ili „bolest putovanja“ koja nastaje kao posledica letenja avionom kroz različite vremenske zone u toku međukontinentalnih letova. Mehanizmi koji proizvode pospanost su rezultat razlika između telesnih satova i brzine prelaska na nove teritorije, tj. efekata vremenskih zona. SCN - master sat ima inerciju od nekoliko ciklusa u odnosu na nagle promene u fotoperiodu. Pored toga, sposobnost organa da se menjaju i održe odgovarajući fazni odnos jedan sa drugim i sa SCN

tokom perioda podešavanja je različita, jer su poremećeni ćelijski oscilatori i unutrašnja vremenska organizacija tela. Jetlag je privremeno kliničko-fiziološko stanje, najčešće je praćeno nespecifičnim simptomima kod pilota i ostalog letačkog osoblja u 90% slučajeva. Ljudi čiji su cirkadijalni ritmovi bili prekinuti proizvode simptome stresa koji pogoršavaju koordinaciju i povećavaju osetljivost na infekcije (40-43).

- Za razliku od kratkih perioda putovanja kroz vremenske zone („jetlag“), hronično neuskladeni cirkadijalni sistemi menjaju socijalno ponašanje („socijalni jetlag“) i trajanje spavanja. Moderan način života je povezan sa povećanim izlaganjem veštačkom svetlu i pomeranjem svetlosnog spektra prema izvoru veštačke svetlosti sa jakom plavom komponentom, smanjenom izloženošću dnevnom svetlu, kasnim obrocima, smanjenjem spavanja, potencijalnim radom u smenama (engl. *shift work*), zamenom dana za noć, kao i čestim interkontinentalnim promenama zona. Plava svetlost kojom telefoni i kompjuteri noću zrače, „govore“ telesnom satu da je dan što indukuje nesanicu. Veliki broj ljudi pati od nekog stepena hrono poremećaja u modernom društvu, jer akumulirani nedostatak spavanja utiče na socijalne interakcije. Ljudi koji žive u razvijenim zemljama su sami odabrali svoj ciklus svetlo-tama. Benjamin SL i Aaron ES 2018 g. (47) su opisali uticaj socijalnog jetлага na akademsku postignuća, analizom 15000 studenata (na Univ. Ilinoisa) sistemom on-line učenja u toku dve godine. Sortirali su sve studente u hronotipove („jutarnje ševe“ – ranoranioci i „noćne sove“ - budni cele noći) i na osnovu aktivnosti 60% učenika je imalo više od 30 min socijalnog zastoja i neuskladenosti koja je vidljena u svim hronotipovima. Najveća neregularnost i redukovana sinhronizacija, kao i najmanja fazna uskladenost sa rasporedima obaveza je bila zastupljena kod hronotipa „noćne sove“ zbog otežanog praćenja ranih jutarnjih kurseva i drugih zahteva u jutarnjim satima koja su proizvela deficit u učenju, smanjene akademske rezultate, niže ocene, gojaznost, prekomernu upotrebu alkohola i duvana. Cirkadijalni ritam utiče na brojne kognitivne funkcije kao što su pažnja, egzekutivne funkcije, pamćenje. Jutrarnje izlaganje suncu povećava temperaturu i utiče na budnost, sekreciju serotonina, kogniciju, raspoloženje, povećanu vitalnost. Ljudi imaju različite biološke vremenske ritmove, pa ne postoji prosto rešenje koje se može primeniti u obrazovanju. Iz svega iznetog istraživači daju savet o individualizaciji obrazovanja, tako da učenje i nastava budu strukturirane kako bi se iskoristilo znanje o tome u koje doba dana će dati učenik biti najspasobniji. Stariji ljudi imaju tendenciju da budu aktivni rano ujutro, za razliku od mladih kod kojih od puberteta cirkadijalni ritam kasni. Cirkadijalni ritmovi se pomeraju u skladu sa godišnjim dobom zasnovanim na prirodnom svetlu (48,49).

- Rad u smenama (*shift-work*): radno aktivno stanovništvo (oko 20%) u zapadnim zemljama (zdravstvo, industrija, saobraćaj i dr) je uključeno u rad po smenama, što rezultira disregulacijom bioloških ritmova. Radnici u noćnim smenama ostaju budni i aktivni u 24 h periodu kad su njihove psihofiziološke funkcije podešene na

neaktivnost. Usled izmenjenog odnosa ciklusa budnost/spavanja, hranjenja, buke, nastaju poremećaji sinhronizacije cirkadijalnog ritma sa spoljašnjim uslovima: metaboličke bolesti (gojaznost i dijabetes), depresija, bipolare i sezonske afektivne bolesti, kardiovaskularne bolesti, tromboza ili kanceri, kao i modulacije koncentracije kortizola i C-reaktivnog proteina (CRP) i dr. Primerom medicinskih sestara koje su studirale i radile u smenama, poremećajem ritma uvećavale su telesnu masu i u velikom broju obolevale od brojnih bolesti (dijabetes tipa II, povećanje koncentracije holesterola i triglicerida u krvi, poremećaji metabolizma ugljenih hidrata, insulinska rezistencija, izmenjene vrednosti hormona rasta i glikokortikoida i dr.). Sa druge strane radnici u smenama osim čestih zapaljenskih reakcija imaju hormonski disbalans (sa povećanom koncentracijom rezistina, grelina, leptina i adiponektina, lipokalina-2, melatonina i kortizola), kao i česte mutacije gena indukovane oksidativnim stresom. Usled desinhronizacije ritmičkih sistema kod radnika u smenama se događa spavanje na poslu, smanjena efikasnost, poremećen raspored za odmor, izmenjen porodični i socijalni život i povećan je rizik od razvoja malignih bolesti (14,41-50).

- Sezonski Afektivni Poremećaj (engl. *Seasonal Affective Disorder, SAD*) tokom sezona tmurnih, hladnih perioda bez sunca raspoloženje postaje melanolistično (engl. "winter blues"). Kod pacijenata sa SAD se pojavljuje u jesen ili zimu duboka depresija, tuga, prekomerno spavanje (sa povećanim nivoom melatonina) i zamaranje, žudnja za ugljenim hidratima (debljanje) i anksioznost (48-50).

### Hronoterapija: uspeh zasnovan na hronofarmakologiji i hrononutriciji.

Prema hronofarmakologiji (cirkadijalna farmakologija), doba dana utiče na efikasnost ili toksičnost mnogih često korišćenih lekova (metabolizam, varijacije u osetljivosti ciljnih ćelija i dr). Hronofarmakologija zastupa mišljenje da postoji idealno doba dana za uzimanje određenih lekova u lečenju svake bolesti. Postoje brojni primeri za ovu konstataciju: organizam najbolje apsorbuje vitamine do četiri sata po podne; terapija teofilinom astmatične dece ili tretman lekovima protiv raka u određenim cirkadijalnim periodima proizvodi predvidive promene tolerancije i efikasnosti leka u kontroli rasta tumora. Osnovni mehanizmi uključuju cirkadijalnu kontrolu leka, metabolizma, ćelijsku detoksifikaciju i proliferaciju, reparaciju DNK i drugo (42,43).

Hronoterapija se odnosi na terapiju i lečenje poremećaja koji moraju da poštuju harmoniju prirodnih ritmova (hormonska terapija). Hronoterapija se koristi u tretmanu spavanja, hipertenzije, astme, kancera, depresije i dr. Terapija melatoninom se sprovodi za lečenje pacijenata sa cirkadijalnim, psihijatrijskim poremećajima, kao i poremećajima spavanja kod starih i obolelih od Alchajmerove demencije i drugih degenerativnih neuroloških bolesti. Takođe, melatonin ima povoljno terapeutsko dejstvo kod brojnih razvojnih poremećaja, kod

bolešnika sa insomnijom, kod slepih, kod obolelih od sindroma Jet-lag, kao i u terapiji poremećaja spavanja kod smenskih radnika. Izlaganje prekomernoj svetlosti može prekinuti normalnu sintezu melatonina i zaustaviti biološki sat, što indukuje probleme u spavanju. Tretmani svetлом u psihijatriji se zasnivaju na neurobiološkim principima, držati manijačne pacijente u tamnoj sobi sa izlaženjem na sunce nekoliko sati svakog dana (u cilju inhibicije sinteze melatonina). U depresiji raste kortizol, dok je amplituda melatonina smanjena, a sekrecija je u pogrešno vreme. Kratkotrajna deprivacija spavanja poboljšava depresiju (43,44).

Dnevno svetlo koje prati cirkadijalni ritam za pacijente u operacionoj sali, kao i u periodu postanestezijske nege, zajedno sa upotrebotom aktivatora malih molekula kriptohroma su faktori modulacije centralnog sata za produžavanje ili skraćenje perioda. Hirurško lečenje pacijenata bi bilo znatno olakšano, kada bi se u planiranje operativnog zahvata uzimao u obzir biološki vremenski obrazac pacijenta, prijemčivost pacijenta za određeni tip anestetika, kao i sklonost pacijenta za postoperativni razvoj infekcije (44-46).

Cirkadijalna svojstva perifernih oscilatora (faza, period, amplituda, veličina, resetovanje i dr) se mogu analizirati i dobiti korisne informacije o cirkadijalnom fenotipu, koji će sigurno biti uključen u dijagnostičke procedure u bliskoj budućnosti. Biopsijom kože (fibroblasti iz kože) će se lako testirati molekularna osnova poremećenog ritma na celularnom nivou. Starenje kod ljudi utiče na cirkadijalne satove.

### Zaključak

Značajna otkrića u oblasti hronobiologije dovela su do boljeg razumevanja neurofiziologije bioloških ritmova i homeosatskih varijabli sa cirkadijnim varijacijama. To je omogućilo i napredak u razumevanju hronopatologije, ali i mogućnosti hronoterapije. Dalja translaciona istraživanja u ovoj oblasti omogućiće uspešniji razvoj personalizovane medicine.

### Zahvalnost

Rad je nastao u okviru Projekta 175032 koji finansira Ministarsvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

### Literatura

1. Saini C, Brown SA, Dibner C. Human peripheral clocks: applications for studying circadian phenotypes in physiology and pathophysiology. *Front Neurol.* 2015; 6:95.2.
2. Roenneberg T, Kuehnle T, Juda M, Kantermann T, Allebrandt K, Gordijn M, et al. Epidemiology of the human circadian clock. *Sleep Med Rev.* 2007 Dec; 11(6):429-438.
3. Cloudsley - Thompson JL. Microecology. *Studies in*

- Biology 6, E.Arnold Publ, London:49, 1967.
- 4. Luce GG. Biological Rhythms in Human and Animal Physiology By G.G. Luce (183) Dover Publications: New York. 1972.
  - 5. DeMiran J. Observation botanique. *Hist Acad Roy Sci*, 35–36, 1729.
  - 6. Stearn, WT. The background of linnaeus's contributions to the nomenclature and methods of systematic biology. *Systematic Biology*. 1959 March; 8(1):4–22.
  - 7. Müller-Wille S, Orel V. From Linnaean Species to Mendelian Factors: Elements of Hybridism, 1751–1870. *Annals of Science* 2007; 64:171–215.
  - 8. Silver R and Rainbow M. The Suprachiasmatic Nucleus and the Circadian Timekeeping System of the Body. *Neuroscience in the 21st Century*, D.W. Pfaff (ed.) 1-49, 2015.
  - 9. Moran D, Softley R, Warrant EJ. Eyeless Mexican cavefish save energy by eliminating the circadian rhythm in metabolism. *PLoS One*. 2014 Sep; 9(9):e107877.
  - 10. Reinberg EA and Smolensky HM. Night and Shift Work and Transmeridian and Space Flights, 243–255, 1992.
  - 11. Halber F. The 24-hour scale: a time dimension of adaptive functional organization. *Perspect Biol Med*. 1960; 3:491–527.
  - 12. van Oosterhout F, Lucassen EA, Houben T, vanderLeest HT, Antle MC, Meijer JH. Amplitude of the SCN clock enhanced by the behavioral activity rhythm. *PLoS One*. 2012; 7(6):e39693.
  - 13. Vansteensel MJ, Michel S, Meijer JH. Organization of cell and tissue circadian pacemakers: a comparison among species. *Brain Res Rev*. 2008 Jun; 58(1):18–47.
  - 14. Charrier A, Olliac B, Roubertoux P, Tordjman S. Clock Genes and Altered Sleep–Wake Rhythms: Their role in the development of psychiatric disorders. *Int J Mol Sci*. 2017 Apr; 18(5):pii:E938.
  - 15. Okamoto S, Okamura H, Miyake M, Takahashi Y, Takagi S, Akagi K, et al. A diurnal variation of vasoactive intestinal peptide (VIP) mRNA under a daily light-dark cycle in the rat suprachiasmatic nucleus. *Histochemistry*. 1991; 95(5):525–528.
  - 16. Wray S, Castel N, Gamer H. Characterization of the suprachiasmatic nucleus in organotypic slice explant cultures. *Microsc Res Tech*. 1993 May; 25(1):46–60.
  - 17. Saini C, Brown SA, Dibner C. Human peripheral clocks: applications for studying circadian phenotypes in physiology and pathophysiology. *Front Neurol*. 2015 May; 6:95.2.
  - 18. Hannibal J. Neurotransmitters of the retino-hypothalamic tract. *Cell Tissue Res*. 2002 Jul; 309(1):73–88.
  - 19. Reghunandanan V, Reghunandanan R. Neurotransmitters of the suprachiasmatic nuclei. *J Circadian Rhythms*. 2006 Feb;4:2.
  - 20. Vriend J, Reiter RJ. Melatonin feedback on clock genes: a theory involving the proteasome. *J Pineal Res*. 2015 Jan; 58(1):1–11.
  - 21. Graham DM, Wong KY. Melanopsin-expressing, Intrinsic Photosensitive Retinal Ganglion Cells (ipRGCs). *Webvision: The Organization of the Retina and Visual System* 2008 In: Kolb H, Fernandez E, Nelson R, editors.
  - 22. Nováková M, Sládek M, Sumová A. Human chronotype is determined in bodily cells under real-life conditions. *Chronobiol Int*. 2013 May; 30(4):607–617.
  - 23. Stokkan KA, Yamazaki S, Tei H, Sakaki Y, Menaker M. Entrainment of the circadian clock in the liver by feeding. *Science*. 2001 Jan; 291(5503):490–493.
  - 24. Carcieri SM, Jacobs AL, Nirenberg S. Classification of retinal ganglion cells: a statistical approach. *J Neurophysiol*. 2003 Sep; 90(3):1704–13.
  - 25. Wang YP, Dakubo G, Howley P, Campsall KD, Mazarolle CJ, Shiga SA, et al. Development of normal retinal organization depends on Sonic hedgehog signaling from ganglion cells. *Nat Neurosci*. 2002 Sep; 5(9):831–832.
  - 26. Zochowski M, Wachowiak M, Falk CX, Cohen LB, Lam YW, Antic S, et al. Imaging membrane potential with voltage-sensitive dyes. *Biol Bull*. 2000 Feb; 198(1):1–21.
  - 27. Johansson AS, Owe-Larsson B, Hetta J, Lundkvist GB. Altered circadian clock gene expression in patients with schizophrenia. *Schizophr Res*. 2016 Jul; 174(1–3):17–23.
  - 28. Buhr ED, Takahashi JS. Molecular components of the Mammalian circadian clock. *Handb Exp Pharmacol*. 2013; (217):3–27.
  - 29. Berson DM. Strange vision: ganglion cells as circadian photoreceptors. *Trends Neurosci*. 2003 Jun; 26(6):314–320.
  - 30. Hattar S, Liao HW, Takao M, Berson DM, Yau KW. Melanopsin-containing retinal ganglion cells: architecture, projections, and intrinsic photosensitivity. *Science*. 2002 Feb; 295(5557):1065–70.
  - 31. Lerner A, Case JD, Takahashi Y, Lee TH, Mori W. Isolation of melatonin, a pineal factor that lightens melanocytes. *J Am Chem Soc*. 1958 May; 80(10): 2587.
  - 32. Jerison HJ. Evolution of the Brain and Intelligence. New York: Academic Press; 1973.
  - 33. Satyananda SS. The pineal gland (ajnachakra). Bihar India: Bihar school of Yoga; 1972.
  - 34. Maronde E, Stehle JH. The mammalian pineal gland: known facts, unknown facets. *Trends Endocrinol Metab*. 2007 May-Jun; 18(4):142–9.
  - 35. Weaver DR. The suprachiasmatic nucleus: a 25-year retrospective. *J Biol Rhythms*. 1998 Apr; 13(2):100–12.
  - 36. Hardeland R, Cardinali DP, Srinivasan V, Spence DW, Brown GM, Pandi-Perumal SR. Melatonin—a pleiotropic, orchestrating regulator molecule. *Prog Neurobiol*. 2011 Mar; 93(3):350–84.
  - 37. Pandi-Perumal SR, Trakht I, Srinivasan V, Spence DW, Maestroni GJ, Zisapel N, et al. Physiological effects of melatonin: role of melatonin receptors and signal transduction pathways. *Prog Neurobiol*. 2008

- Jul; 85(3):335-53.
38. Aschoff J. Exogenous and endogenous components in circadian rhythms. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology: Volume XXV. Biological Clocks*. New York: Cold Spring Harbor Press, 11–28, 1960.
39. Back FA, Fortes FS, Santos EHR, Barreto LSM, Louzada FM. Non-photic synchronization: the effect of aerobic physical exercise. *Rev. Bras. Med. Esporte*, 13:123-124, 2007.
40. Vitaterna MH, Takahashi JS, Turek FW. Overview of circadian rhythms. *Alcohol Res Health*. 2001; 25(2):85-93.
41. Ditisheim AJ, Dibner C, Philippe J, Pechère-Bertschi A. Biological rhythms and preeclampsia. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2013 Apr 8; 4:47.
42. Brown DL, Feskanich D, Sánchez BN, Rexrode KM, Schernhammer ES, Lisabeth LD. Rotating night shift work and the risk of ischemic stroke. *Am J Epidemiol*. 2009 Jun 1; 169(11):1370-7.
43. Baehr EK, Fogg LF, Eastman CI. Intermittent bright light and exercise to entrain human circadian rhythms to night work. *Am J Physiol*. 1999 Dec; 277(6 Pt 2):R1598-604.
44. Reppert SM, Weaver DR. Molecular analysis of mammalian circadian rhythms. *Annu Rev Physiol*. 2001; 63:647-676.
45. Youngstedt SD, Kripke DF, Elliott JA. Circadian phase-delaying effects of bright light alone and combined with exercise in humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2002 Jan; 282(1):R259-66.
46. Takahashi JS, Hong HK, Ko CH, McDearmon EL. The genetics of mammalian circadian order and disorder: implications for physiology and disease. *Nat Rev Genet*. 2008 Oct; 9(10):764-775.
47. Smarr BL, Schirmer AE. 3.4 million real-world learning management system logins reveal the majority of students experience social jet lag correlated with decreased performance. *Sci Rep*. 2018 Mar 29; 8(1):4793.
48. Smolensky MH, Scott PH, Harrist RB, Hiatt PH, Wong TK, Baenziger JC, et al. Administration-time-dependency of the pharmacokinetic behavior and therapeutic effect of a once-a-day theophylline in asthmatic children. *Chronobiol Int*. 1987; 4(3):435-447.
49. Mormont MC, Levi F. Cancer chronotherapy: principles, applications, and perspectives. *Cancer*. 2003 Jan 1; 97(1):155-169.
50. Borbély AA, Achermann P. Sleep homeostasis and models of sleep regulation. *J Biol Rhythms*. 1999 Dec; 14(6):557-568.