

Cirkadiani ritem pri ljudeh

Circadian rhythm in humans

Klemen Španinger,¹ Rok Košir,¹ Martina Fink,² Nataša Debeljak,¹ Damjana Rozman¹

¹ Center za funkcijsko genomiko in biočipe, Inštitut za biokemijo, Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani, Zaloška 4, SI-1000 Ljubljana

² Univerzitetni klinični center Ljubljana, Klinični oddelek za hematologijo, Zaloška 7, SI-1000 Ljubljana

Korespondenca/

Correspondence:

prof. dr. Damjana Rozman
Center za funkcijsko genomiko in biočipe, Inštitut za biokemijo, Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani, Zaloška 4, SI-1000 Ljubljana

Ključne besede:

cirkadiani ritem, fiziologija, kronomedicina, biološki ritmi, Clock

Key words:

circadian rhythm, physiology, chronomedicine, biological rhythms, clock

Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn 2009; 78: 651–657

Prispelo: 24. dec. 2008,
Sprejeto: 16. sept. 2009

Izvleček

Izhodišča: Kronobiologija je veda znanosti, ki proučuje periodične (ciklične) procese v živih organizmih in njihovo prilagajanje na sončne, lunarne in sorodne ritme. Ti ritmi se znotraj celotnega organizma in znotraj posameznih celic ponavljajo s frekvencami od nekaj let do nekaj milisekund. Nekateri biološki ritmi so odvisni od dogajanja v okolju in nanje lahko vplivajo spremembe temperature ozračja, menjava dneva in noči ter menjavanje letnih časov. Raziskave zadnjih nekaj let dokazujejo, da so biološki ritmi pomembni za zdravje in dobro počutje ljudi. Od vseh bioloških ritmov je najbolj raziskan cirkadiani ritem s periodo približno 24 ur.

Zaključki: Tako kronobiologija kot kronomedicina nam v prihodnosti odpirata vrata, ki vodijo k boljšemu razumevanju načina delovanja človeškega telesa. Vse pomembnejša pa postaja tudi kronofarmakologija, ki se ukvarja z jemanjem zdravil ob času, ko bo zdravilo najbolj učinkovito in bo imelo ob jemanju kar najmanj neželenih učinkov.

Biološki ritmi

Biološki ritmi so načini prilagoditve organizmov na ritme v okolju, kot je npr. vrtenje zemlje okoli svoje osi. Najdemo jih pri večini živih organizmov, kjer jih delimo v dve skupini: zunanje in notranje. Zunanji ritmi nastanejo kot neposredna posledica okoljskih dražljajev (npr. svetloba, temperatura), medtem ko je za notranje ritme odgovorna notranja biološka ura. Vzdržujejo se tudi, kadar odstranimo vse zunanje okoljske dražljaje. Primera dveh najbolj znanih cirkadianih

Abstract

Background: Chronobiology is a field of science that examines periodic (cyclic) phenomena in living organisms and their adaptation to solar and lunar related rhythms. These rhythms have frequencies lasting from milliseconds to years. Some biological rhythms depend on the events in the environment. These include alternations of day and night, changes in environment temperature and changes of seasons. Research in the last few years showed the importance of biological rhythms for the human health and well being. The most widely investigated biological rhythm is the circadian rhythm which has a period of approximately 24 h.

Conclusions: Chronobiology and chronomedicine are becoming important fields in understanding the functions of the human body. Another emerging field of science is chronopharmacology whose main objective is to elucidate the time points at which drugs will be most effective and will have the least side effects.

notranjih ritmov pri človeku sta ritem spanja in bedenja ter ritem telesne temperature.¹³

V zadnjih letih se je izkazalo, da biološki ritmi vplivajo na nastanek in razvoj različnih patofizioloških stanj pri človeku (rak in metabolni sindrom). Ker se težave pri določenih bolezenskih stanjih pojavljajo v različnih fazah dneva, naj bi tudi zdravila jemali temu primerno (npr. zdravljenje hiperholesterolemije).

Kronobiologija

Kronobiologija je veda, ki se ukvarja z raziskovanjem bioloških ritmov. Večina raziskav v kronobiologiji je usmerjena v raziskovanje cirkadianih ritmov, za katere je značilna perioda približno 24 ur, kar nam nakazuje že ime *circa diem* (lat.) – približno en dan. Primeri fizioloških procesov, ki imajo cirkadiano osnovo, so prikazani na Sliki 1. Poleg cirkadianih ciklov poznamo še infradiane cikle s periodo enega meseca ali dlje, cirkannualne ritme s periodo enega leta ter ultradiane ritme s periodo, krajšo od 24 ur. Primer infradianega cikla je menstrualni cikel pri odraslih ženskah, medtem ko je primer cirkannualnega ritma zimsko spanje nekaterih sesalcev. Srčni utrip ter dihanje sta dva primera ultradianih bioloških ritmov.^{6, 10} Primere cirkadianih ritmov najdemo tudi pri rastlinah, pri katerih notranja ura uravnava nihanje fotosinteze.¹⁶

Od vseh bioloških ritmov je najbolj raziskan cirkadiani ritem, ki ima zelo velik vpliv na življenje skoraj vseh organizmov.

Raziskave cirkadianega ritma segajo v 18. stoletje, ko je francoski astronom d'Ortous de Marian opazil zapiranje listov mimoze ob pričakovanju noči ter odpiranje listov ob pričakovanju dneva, tudi kadar je bila rastlina v temi. 100 let kasneje je Augustin de Candolle dokazal, da se listi odpirajo tudi, če je rastlina nekaj dni v popolni temi. S tem je bilo dokazano, da cikel odpiranja in zapiranja listov pri

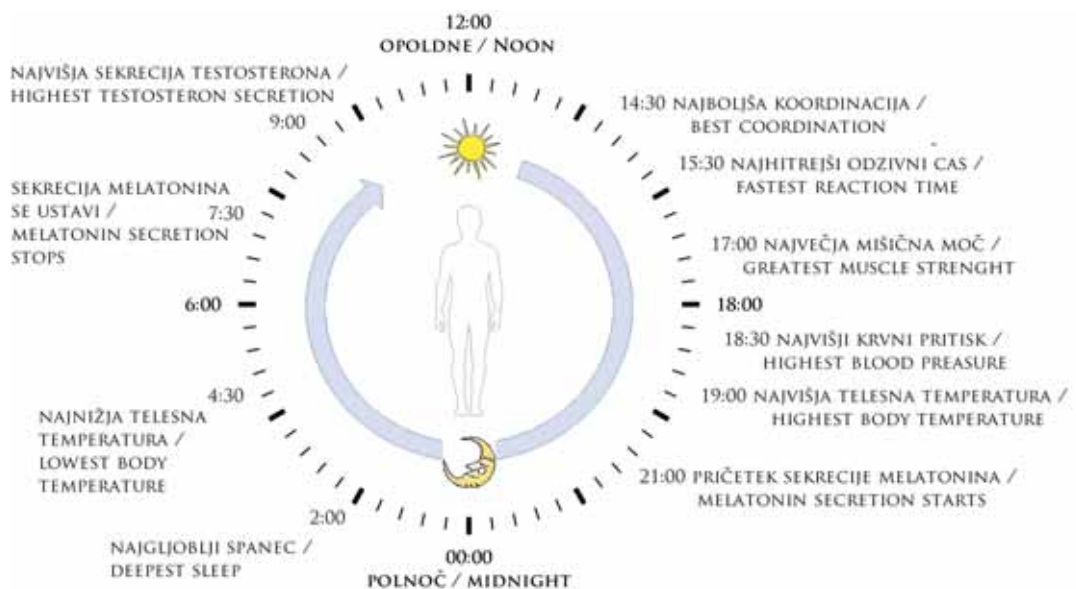
rastlinah ni odvisen od cikla dneva in noči, temveč se ta uravnava z neko notranjo uro.¹⁶

Cirkadiani ritmi so visoko evolucijsko ohranjeni in jih najdemo tako v zelo preprostih organizmih, kot so glive (*Neurospora sp.*) in bakterije (Cianobakterije), kakor tudi pri bolj kompleksnih organizmih, kot so rastline (*Arabidopsisthaliana*), nevretenčarji (*Drosophila melanogaster*) ter vretenčarji (*Mus musculus*, *Homo sapiens*, itd.).¹³

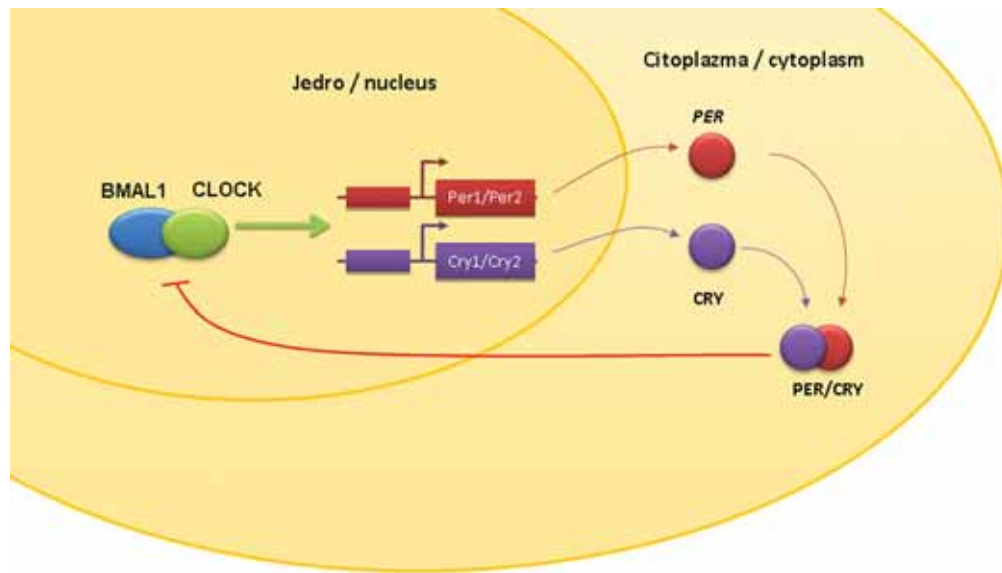
Molekularni mehanizmi cirkadianega ritma

Poznani so nekateri mehanizmi uravnavanja cirkadianega ritma na molekularni ravni, kot npr. uravnava izražanja genov ter aktivnosti in količine različnih proteinov. Leta 1984 so iz genoma *Drosophila*-e osamili prvi cirkadiani gen *Period* (*Per*). Ugotovili so, da prepisovanje gena *Per* uravnava heterodimer BMAL/CLOCK. Oba proteina (BMAL in CLOCK) spadata v skupino cirkadianih transkripcijskih faktorjev. Heterodimer BMAL/CLOCK poveča prepisovanje gena *Per*, kar vodi do povečane koncentracije proteina *Period*. Ta inhibira delovanje heterodimera BMAL/CLOCK in s tem zniža prepisovanja lastnega gena in tudi ostalih *Bmal/Clock* tarčnih genov. Ko se količina proteina *PERIOD* v celici zniža do določene koncentracije, se prepisovanje genov, uravnanih s heterodimerom BMAL/CLOCK, ponovno aktivira. Opisani mehanizem je negativna

Slika 1: Pregled cirkadiane ure pri človeku: Biološka ura pri človeku vpliva na številne fiziološke procese. Diagram prikazuje cirkadiani profil moške osebe, ki vstane zgodaj zjutraj, opoldne poje kosilo in odide spat ob 22. uri. Čeprav so cirkadiani ritmi sinhronizirani z dnevno-nočnim ciklom, pa lahko nanje vplivajo tudi drugi dejavniki, kot so temperatura okolja, čas obrokov, stres in telesna dejavnost.



Slika 2: Osnovna shema negativne povratne zanke. Heterodimer BMAL/CLOCK aktivira prepisovanje genov *Per* in *Cry*, kar vodi v povišanje količine in dimerizacije proteinov PER in CRY v citoplazmi. Dimeri PER/CRY se translocirajo nazaj v jedro, kjer inhibirajo delovanje heterodimera BMAL/CLOCK in s tem znižajo prepisovanje lastnih genov. To posledično vodi v znižanje količine proteinov PER in CRY in ponovno aktivira novi cikel.



povratna zanka, v kateri sintetizirani proteini PERIOD zavre prepisovanje lastnega gena (Slika 2). Takšna negativna povratna zanka je osnova vseh cirkadianih ritmov.³

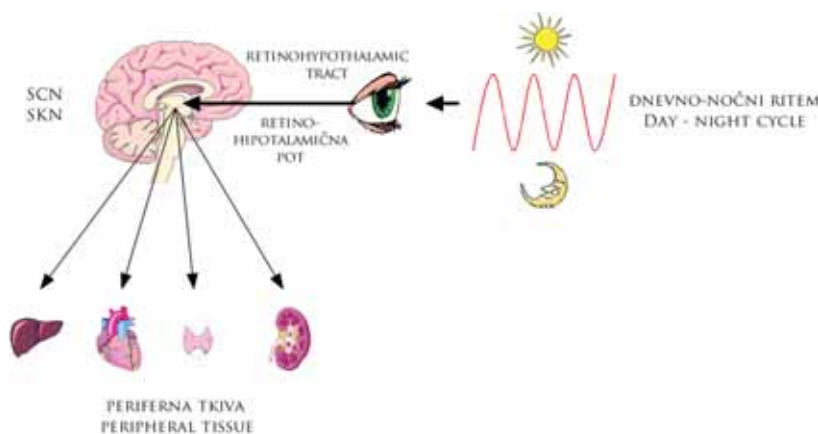
Genetski in biokemijski poskusi z vinsko mušico in mišmi so omogočili določitev cirkadianih genov, ki so odgovorni za cirkadno nihanje in njegovo ohranjanje. Danes je pri sesalcih znana že cela vrsta cirkadianih genov, ki delujejo kot transkripcijski faktorji, npr. *Clock*, *Bmal*, *Per 1*, *Per2*, *Per3*, *Cry1*, *Cry2*, *ROR-α*, *Rev-α* in *Rev-β*, *DBP*, *Npas2*. Vsi so visoko evolucijsko ohranjeni.²

Fiziologija bioloških ur

Pri sesalcih se glavna komponenta biološke ure nahaja v dveh gručah nevronov hipotalamusa, imenovanih suprakiazmatično jedro (SCN). Živčni receptorji v mrežnici so preko mrežnično-hipotalamičnega trakta povezani z SCN, ki je povezan tudi s česeriko. Svetlobni dražljaji se preko mrežnično-hipotalamične prenesajo v česeriko, ki nadzoruje sintezo melatonina, glavnega hormona spanja pri sesalcih. Njegova natančna fiziološka funkcija pa še ni poznana.⁵

Potrditev, da je SCN centralna ura, je bila dokazana, ko so hrčkom kirurško odstranili 75 % SCN. S tem so izničili ritmično in lokomotorno dejavnost, periodo hranjenja, nadzor telesne temperature ter izločanje hormonov melatonina, prolaktina in nekaterih drugih.¹⁶ Svetloba je poleg temperature najpomembnejši dejavnik, ki vpliva na delovanje SCN pri živalih (Slika 3).

Poleg centralnega ritmovnika v možganih obstajajo pri sesalcih še periferni oscilatorji v srcu, jetrih, ledvicah, mišicah, želodcu in črevesju, prav tako tudi v embrijih in izoliranih celicah. Izjema so le moda, kjer ima vsaka posamezna celica znotraj mod avtonomno cirkadiano uro. Glavni ritmovik v SCN uravnava periferne oscilatorje preko humoralnih in živčnih poti. Hormonsko uravnavanje je povezano z dnevnim izločanjem melatonina, ščitničnih hormonov in glukokortikoidov. Obstajajo pa tudi alternativne poti, po katerih se lahko periferni oscilatorji



Slika 3: Sesalski cirkadiani sistem: Cikel dneva in noči ter temperatura uravnava dejavnost glavnega ritmovnika, ki je v suprakiazmatičnem jedru (SCN). Signal se prenaša v SKN preko očesne mrežnice in mrežnično-hipotalamičnega trakta. SCN obdela vnešene signale in preko humoralnih in živčnih poti uravnava uro v perifernih tkivih (jetra, srce, itd.).

spreminjajo neodvisno od centralnega organa (SCN).²

Cirkadiani ritmi in zdravje

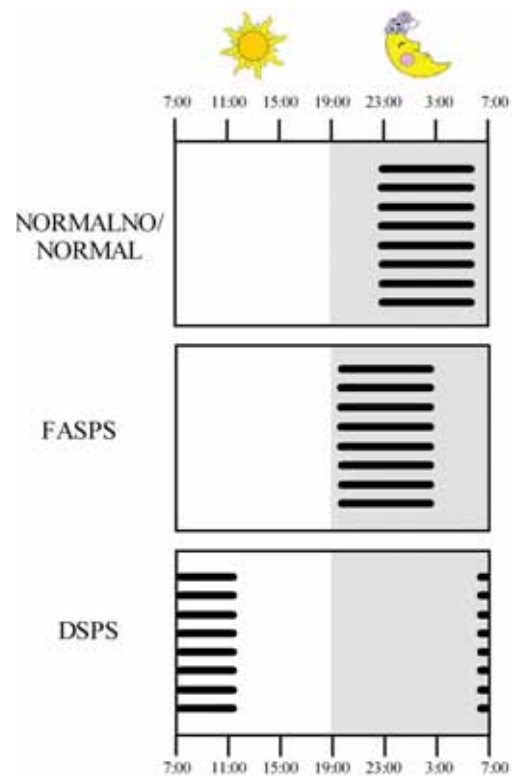
S pomočjo mikromrež DNA je bilo dokazano, da je pri sesalcih v različnih tkivih cirkadiano izraženih med 5 do 10 % genov.^{1,12,19} Ti poleg proteinov cirkadianega ritma kodirajo zelo raznolike genske produkte, ki sodelujejo v procesih proliferacije, diferenciacije in uravnavanja celičnega cikla, a tudi v procesih metabolizma ogljikovih hidratov, maščob, aminokislin, zdravil in drugih telesu tujih snovi.¹¹ Iz tega je razviden močan in neprestan vpliv cikadianega ritma na življenje ljudi. Razumevanje in poznavanje mehanizmov, ki uravnavajo različne biološke ritme in fiziološke procese, povezane z njimi, postajajo v sodobni družbi vse pomembnejši. Z njimi pa postaja vse bolj pomembna tudi kronomedicina ter kronoterapija.

Kronomedicina

V znanstveni literaturi se je v zadnjih letih nakopičilo precej dokazov o vplivu cirkadiane ure na številna bolj ali manj znana bolezenska stanja pri človeku. Razvilo se je novo področje v medicini, imenovano kronomedicina, ki proučuje vpliv zunanjih nihanj na razvoj in zdravljenje bolezni.

Motnje spanja

Eden pomembnejših ciklov, ki je uravnavan preko notranje biološke ure, je cikel spanja in budnosti. Genetske analize motenj spanja, povezanih s cirkadianim ritmom (CRSD – circadian rhythm sleep disorders), kot so FASPS (familial advance sleep phase syndrome) in DPSP (delayed sleep phase syndrome), so pokazale povezavo med posameznimi boleznimi in mutacijami genov centralne cirkadiane ure (Slika 4). Mutacija S662G v genu *Per1* in T44A v genu *CK1δ* (kasein kinaza 1 delta) sta značilni za nekatere podvrste bolezni FASPS, medtem ko je nesmiselna mutacija v genu *Per3* povezana s povišano incidenco DPSP. Zanimivo je, da veliko do danes odkritih mutacij, povezanih s CRSD, vpliva na stanje fosforiliranosti cir-



Slika 4: Shematični prikaz vzorcev spanja pri cirkadianih motnjah spanja. Črte prikazujejo ure spanja.

kadianih proteinov. Vpliv centralne cirkadiane ure na spanje lepo potrjujejo tudi nevrološki dokazi. Saper in sodelavci so v poizkusih sledenja nevronov (nevronal tracing) dokazali povezavo med SCN in dorzomedianim jedrom hipotalamusa (DMH), ki poteka preko subparaventrikularnega področja (SPZ – izpis pomena kartice). Nevrotoksične spremembe v SPZ ali DMH vodijo v spremembe v ciklu spanja in metabolizma, kar potrjuje vlogo DMH in SPZ kot mesti integriranja signalov iz SCN s drugimi signali spanja in metabolizma.^{4,15}

Debelost in metabolni sindrom

Telesna nedejavnost, neredna in neustrezna prehrana, stres ter pomanjkanje spanca so nekateri od vzrokov, ki vodijo do skupine metabolnih motenj, ki jih imenujemo metabolni sindrom (inzulinska odpornost, visoke ravni holesterola, maščob in glukoze v krvi, visok krvni tlak, kopičenje maščobnega tkiva v predelu trebuha itd.). Vse naštetje motnje lahko privedejo do desinhronizacije cen-

tralne in perifernih cirkadianih ur, kar vodi v znatne spremembe homeostaze številnih metabolnih poti kot tudi kardiovaskularnih funkcij.⁸ Prvi dokazi o povezavi cirkadiane ure in metabolnega sindroma so prišli iz živalskih poizkusov, pri katerih so z izničenjem gena *Clock* pri miših odkrili, da le-te sčasoma razvijejo znake metabolnega sindroma.¹⁷ O tesni povezanosti metabolizma in cirkadiane ure govori tudi dejstvo, da ima več kot polovica jedrnih receptorjev, ki delujejo kot senzorji številnih notranjih in zunanjih metabolitov in uravnava izražanje množice genov vpletenih v metabolne poti, v različnih tkivih cirkadiani profil izražanja.²¹

Od leta 2006 naprej so izvedli vsaj 35 epidemioloških študij, ki so skušale povezati spremembe v času spanja s škodljivimi učinki na zdravje, kot so diabetes, debelost, metabolni sindrom in srčno-žilne bolezni.⁷ Van Cauter in sodelavci so pokazali, da se pri ljudeh, ki so šest dni zapored spali samo 4 ure na dan, statistično značilno znižala hitrost odstranjevanja glukoze in izločanja inzulina, kar je značilno za zgodnje faze diabetesa.²⁰

Možganska kap

Številni akutni srčno-žilni dogodki, kot so srčni infarkt, nenadna srčna smrt, pljučni embolizem in anevrizma aorte, kažejo značilni 24-urni vzorec pojavljanja z glavnim

vrhom zjutraj in sekundarnim vrhom zgodaj popoldne. Možganska kap je vrh heterogene skupine možgansko-žilnih bolezni, ki se kažejo kot akutno zmanjšanje prekrvljenosti ali krvavenje ene oziroma več žil v možganih. Enak vzorec pojavljanja kot pri srčno-žilnih dogodkih se kaže tudi pri ishemični in hemoragični možganski kapi, čeprav so za obe značilni različni patofiziološki procesi. Za takšne vzorce pojavljanja so odgovorni notranji ter zunanji dejavniki. Glavni prožilci akutnih dogodkov so med notranjimi dejavniki cirkadiani ritmi v prožnosti žil, ravnotežju strjevanja krvi in krvnem tlaku, medtem ko so med zunanjimi dejavniki telesna dejavnost, stres, drža telesa ter jemanje zdravil.⁹

Cirkadiani ritem in rak

Raziskave na področju cirkadianega ritma so pomembne tudi za razumevanje rakavih bolezni. Študije so pokazale, da je pojavnost raka na dojkah pri delavkah, ki opravljajo nočno delo, višja. To naj bi bilo povezano z zmanjšano oziroma prekinjeno sintezo melatonina, hormona, ki deluje antioksidativno in antikancerogeno. Melatonin se sintetizira v češeriki ponoči, sintezo hormona prekinja svetlobni signal. Posredno je to dokazano z dejstvom, da slepe ženske, ki ne zaznavajo svetlobe, ki bi vplivala na sintezo melatonina, v manjši meri zbolevajo za rakom. Me-

Tabela 1: Bolezenska stanja in priporočljivi intervali zdravljenja.¹⁸

Patologija	Cirkadianost	Zdravilna učinkovina	Apliciranje
Alergijski rinitis	Simptomi se poslabšajo zjutraj	antagonisti H1	1-krat zvečer
Arterijski krvni tlak	Maksimum zjutraj	Antihipertenzivi	S podaljšanim sproščanjem zvečer
Astma	Simptomi so najhujši zjutraj, največja obstrukcija dihal ponoči	β-agonisti Kortikosteroidi	Zvečer Zjutraj
Rak	Proliferacija rakavih celic, ko je mitotična normalnih celic majhna		Odvisno od vrste ZU
Srčno-žilni zapleti	Pojavnost angine pectoris, miokardnega infarkta in trombotične kapi so največje takoj po zburjanju	Nitroglicerinski obliži	Aplikacija zvečer in odstranitev zjutraj
Kateholamini	Koncentracija naraste zjutraj		
Gastrični sistem	Izločanje želodčne kisline je največje zgodaj zjutraj	H2 antagonisti	Zvečer
Osteoartritis	Močnejše bolečine zjutraj	NSAID	Opoldne
Revmatoidni artritis	Močnejše bolečine zvečer	NSAID	Zvečer

latoninska hipoteza tudi pravi, da se zaradi zmanjšane sinteze melatonina poveča sinteza estrogenov, ki delujejo prokancerogeno.¹⁴

Kronoterapija

Metabolizem zdravilnih učinkovin je pod vplivom cirkadianega nihanja. Večina zdravilnih učinkovin je podvržena razgradnji pri pojavu prvega prehoda. Pri tem igrajo vodilno vlogo encimi citokromi P450, ki se nahajajo v jetrih. Tako naj bi se učinkovine dajale bolniku, ko je izražanje encimov na najnižji ravni. S tem bi lahko odmerek za zdravilni učinek zmanjšali, sama biološka uporabnost zdravila bi bila daljša, verjetnost neželenih stranskih učinkov pa bi bila zmanjšana. Nasprotje temu so predzdravila, ki pa za svojo aktivnost potrebujejo razgrajevalni encim.

Priporočljivi režimi dajanja nekaterih zdravilnih učinkovin so navedeni v Tabeli 1.¹⁸

Zaključek

V zadnjem desetletju je postalo jasno, da ima biološka ura velik pomen ne samo pri normalnih fizioloških procesih, ampak tudi pri številnih patofizioloških procesih v človeku. Kljub temu pa je še vedno malo znanega o senzorjih, ki povezujejo cirkadiani sistem s procesi, kot so homeostaza hranil, metabolizem zdravil, kontrakcija srčne mišice ali razvoj neoplazem. V prihodnje je tako potrebno dati večji poudarek pomenu cirkadiane ure tako pri prepoznavanju (diagnosticiranju) in zdravljenju različnih bolezni kot tudi pri predpisovanju zdravil bolnim posameznikom.

Okrajšave

BMAL – brain and muscle aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator (ARNT)-like
 CLOCK –Circadian Locomotor Output Cycles Kaput
 PER1 – Period homolog 1
 PER2 – Period homolog 2
 PER3 – Period homolog 3
 CRY1 – cryptochrome 1
 CRY2 – cryptochrome 2
 ROR- α – RAR-related orphan receptor alpha
 Rev-ERB- α – nuclear receptor subfamily 1, group D, member 1
 Rev-ERB-b – nuclear receptor subfamily 1, group D, member
 DBP – D site albumin promoter binding protein
 Npas2 – neuronal PAS domain protein 2
 SCN – suprachiasmatic nucleus
 CRSD – Circadian Rhythm Sleep Disorder
 FASPS – Familial Advanced Sleep Phase Syndrome
 DPSP – Delayed Sleep Phase Syndrome
 DMH – Dorsomedial hypothalamic nucleus
 SPZ – subparaventricular zone

Literatura

1. Akhtar RA, Reddy AB, Maywood ES, Clayton JD, King VM, Smith AG, et al. Circadian cycling of the mouse liver transcriptome, as revealed by cDNA microarray, is driven by the suprachiasmatic nucleus. *Curr Biol* 2002; 12: 540–50.
2. Canaple L, Kakizawa T, Laudet V. The days and nights of cancer cells. *Cancer Res* 2003; 63: 7545–52.
3. Glossop NR, Hardin PE. Central and peripheral circadian oscillator mechanisms in flies and mammals. *J Cell Sci* 2002; 115: 3369–77.
4. Gooley JJ, Schomer A, Saper CB. The dorso-medial hypothalamic nucleus is critical for the expression of food-entrainable circadian rhythms. *Nat Neurosci* 2006; 9: 398–407.
5. Hastings M. The brain, circadian rhythms, and clock genes. *Bmj* 1998; 317: 1704–07.
6. Haus E. Chronobiology in the endocrine system. *Adv Drug Deliv Rev* 2007; 59: 985–1014.
7. Knutson KL, Spiegel K, Penev P, Van Cauter E. The metabolic consequences of sleep deprivation. *Sleep Med Rev* 2007; 11: 163–78.
8. Laposky AD, Bass J, Kohsaka A, Turek FW. Sleep and circadian rhythms: key components in the regulation of energy metabolism. *FEBS Lett* 2008; 582: 142–51.
9. Manfredini R, Boari B, Smolensky MH, Salmi R, la Cecilia O, Maria Malagoni A, Haus E, and Manfredini F. Circadian variation in stroke onset: identical temporal pattern in ischemic and hemorrhagic events. *Chronobiol Int* 2005; 22: 417–53.
10. Moser M, Fruhwirth M, Penter R, and Winker R. Why life oscillates—from a topographical towards a functional chronobiology. *Cancer Causes Control* 2006; 17: 591–9.
11. Oishi K, Miyazaki K, Kadota K, Kikuno R, Nagase T, Atsumi G, et al. Genome-wide expression analysis of mouse liver reveals CLOCK-regulated circadian output genes. *J Biol Chem* 2003; 278: 41519–27.
12. Panda S, Antoch MP, Miller BH, Su AI, Schook AB, Straume M, et al. Coordinated transcription of key pathways in the mouse by the circadian clock. *Cell* 2002; 109: 307–20.
13. Paranjpe DA, Sharma VK. Evolution of temporal order in living organisms. *J Circadian Rhythms* 2005; 3: 7.
14. Pauley SM. Lighting for the human circadian clock: recent research indicates that lighting has become a public health issue. *Med Hypotheses* 2004; 63: 588–96.
15. Saper CB. Staying awake for dinner: hypothalamic integration of sleep, feeding, and circadian rhythms. *Prog Brain Res* 2006; 153: 243–52.
16. Sassone-Corsi P. Molecular clocks: Mastering time by gene regulation. *Nature* 1998; 392: 871–4.
17. Turek FW, Joshu C, Kohsaka A, Lin E, Ivanova G, McDearmon E, et al. Obesity and metabolic syndrome in circadian Clock mutant mice. *Science* 2005; 308: 1043–5.
18. BB. Medication timing for the elderly: the impact of biorhythms on effectiveness. *Geriatr Nurs* 1998; 19: 146–51.
19. Ueda HR, Chen W, Adachi A, Wakamatsu H, Hayashi S, Takasugi T, et al. A transcription factor response element for gene expression during circadian night. *Nature* 2002; 418: 534–9.
20. Van Cauter E, Spiegel K, Tasali E, Leproult R. Metabolic consequences of sleep and sleep loss. *Sleep Med* 2008; 9(Suppl 1): S23–8.
21. Yang X, Downes M, Yu RT, Bookout AL, He W, Straume M, et al. Nuclear receptor expression links the circadian clock to metabolism. *Cell* 2006; 126: 801–10.