

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Egor Kuznetsov

Cirkadiánní regulace glymfatického systému a její spojení s rozvojem neurodegenerativních onemocnění

Circadian regulation of the glymphatic system and its connection with the development of neurodegenerative diseases

Bakalářská práce

Vedoucí práce/Školitel:

prof. PharmDr. Alena Sumová, CSc., DSc.

Praha, 2024

Charles University
Faculty of Science

Poděkování

Rad bych poděkoval své školitelce paní prof. PharmDr. Aleně Sumové za cenné rady, vstřícný přístup a trpělivost při psání bakalářské práce.

Prohlášení

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

V Praze, 29.04.2024

Egor Kuznetsov

Abstrakt

Vzhledem k absenci aktivního lymfatického systému mozku a odpovědného uzlinového systému bylo dlouho nejasné, jak jsou eliminovány intersticiální metabolické odpadní produkty, zejména amyloid- β , tau-protein, α -synuklein a další biomarkery spojené s vývojem neurodegenerativních onemocnění. Klíčovou roli v tomto procesu sehraává glymfatický systém, komplexní síť tunelovitých perivaskulárních prostorů (PVSs), které dirigují tok mozkomíšního moku (CSF). Tyto prostory jsou obklopeny astrocyty, zodpovědnými za transport tekutin a odstraňování metabolitů. Studie naznačují, že glymfatický systém podléhá endogenním cirkadiánním hodinám, a existuje zjištěná korelace mezi objemem perivaskulárních prostorů a s tím rychlostí průtoku CSF a spánkem. Mezi faktory ovlivňující funkci glymfatického systému patří pulsace cév, prostorová orientace těla a funkčnost aquaporinu-4 (AQP4). Dysfunkce glymfatického systému hraje klíčovou roli při stárnutí mozku a rozvoji různých neurodegenerativních onemocnění. Cílem práce je shrnout poznatky o regulaci glymfatického systému a jeho vlivu na rozvoj neurodegenerativních onemocnění. Pochopení mechanismů těchto procesů je zásadní pro vývoj nových strategií v oblasti prevence a léčby širokého spektra onemocnění a udržení zdraví mozku.

Klíčová slova: Glymfatický systém, cirkadiánní hodiny, amyloid- β , AQP4, zdraví mozku, Alzheimerova choroba.

Abstract

Due to the absence of an active lymphatic system of the brain and the responsible nodal system, it has long been unclear how interstitial metabolic waste products, in particular amyloid- β , tau-protein, α -synuclein and other biomarkers associated with the development of neurodegenerative diseases, are eliminated. A key role in this process is played by the glymphatic system, a complex network of tunnel-shaped perivascular spaces (PVSs) that conduct the flow of cerebrospinal fluid. These spaces are surrounded by astrocytes, responsible for the transport of fluids and the removal of metabolites. Studies suggest that the glymphatic system is subject to an endogenous circadian clock, and there is an established correlation between the volume of perivascular spaces and, with it, the rate of cerebrospinal fluid flow and sleep. Factors affecting the function of the glymphatic system include pulsation of blood vessels, spatial orientation of the body and functionality of aquaporin-4 (AQP4). Dysfunction of the glymphatic system plays a key role in the aging of the brain and the development of various neurodegenerative diseases. The aim of the work is to summarize the known knowledge about the regulation of the glymphatic system and its influence on the development and prevention of neurodegenerative diseases. Understanding the mechanisms of these processes is essential for developing new

strategies for the prevention and treatment of a wide range of diseases and maintaining brain health.

Keywords: glymphatic system, circadian clock, amyloid- β , AQP4, brain health, Alzheimer's disease

Obsah

Abstrakt	3
Seznam zkratk	5
Úvod.....	6
1.Struktura glymfatického systému.....	6
1.1.Produkce CSF a transport do subarachnoidálních komor.....	7
1.2. Funkce AQP4 v průniku CSF do parenchymu mozku	9
2. Mechanismy cirkadiánní regulace	11
3.Hematoencefalická bariéra.....	15
3.1.Endotelové buňky	15
3.2. Astrocyty	16
4.Glymfatický systém a cyklus spánek-bdění	18
4.1. Fyziologický význam spánku.....	20
5.Neurodegenerativní nemoci.....	21
5.1.Alzheimerová choroba	21
5.2. Parkinsonova choroba	23
Závěr.....	24
Seznam použité literatury.....	26

Seznam zkratk

AD	Alzheimer's disease
AQP	aquaporin
A β	beta-amyloid
BBB	hematoencefalická bariéra
BMAL1	brain and muscle ARNT-like protein 1
CLOCK	circadin locomotor output cycles kaput
CNS	centrální nervový systém
CRY	cryptochrome
CSF	cerebrospinal fluid
GABA	Gamma-aminobutyric acid
IL-6	interleukin-6
ISF	interstitial fluid
NCoR/HDAC3	Nuclear receptor corepressors a histone deacetylase 3
PD	Parkinson's disease
PER	period
PVSs	perivascular spaces
REV-ERB	orphan receptor
ROR	příbuzný orphan receptor
RORE	ROR responzivní element
SCN	suprachiasmatické jádro
SIRT1	sirtuin 1
TGF- β	Transforming growth factor beta
TRPM7	Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily M Member 7
α Syn	alfa-synuklein

Úvod

Lidský mozek váží průměrně kolem 1300 gramů a tvoří tím mírně méně než 2% hmotnosti těla. Bez ohledu na to, zda člověk spí nebo je bdělý, mozek spotřebovává přibližně čtvrtinu veškeré energie, kterou tělo využívá. Tuto energii spotřebovává neustále, někdy dokonce i více během určitých nočních období než ve dne. Tak intenzivní spotřeba energie vyžaduje odpovídající metabolismus, což vede k hromadění obrovského množství metabolitů koncentrovaných do pouhých 2% hmotnosti těla (Ho et al., 1980).

Dlouho byla možnost a mechanismus, jak se tyto metabolity z mozku eliminují, pouze teoretickým odhadem, dokud v roce 2012 Jeffrey Iliff a Maiken Nedergaard neprokázali existenci specifického systému v mozku, kterému byl dán název „glymfatický systém“, vzhledem k jeho spojení s gliálními buňkami a funkcemi čištění mozku (Iliff et al., 2012). Tento systém oběhu CSF a intersticiální tekutiny (ISF) v normálním stavu zcela zajišťuje čištění mozku od škodlivých produktů metabolismu. Oslabení funkce glymfatického systému vede k dramatickému nárůstu koncentrace dříve zmíněných metabolitů v mozku, například beta-amyloidových plaků, což má následný vliv na patogenezi a vývoj neurodegenerativních onemocnění. Mezi nejvýznamnější a nejvíce specifické markery patří amyloidy – stabilní fibrilární proteinové homopolymery, porušující proteostázi (Chuang et al., 2018). Agregace amyloidů a jejich biochemická a termodynamická stabilita vede k akumulaci a vzniku různých patologických stavů. Z pohledu neurodegenerativních nemocí nás zajímají následující amyloidy: 1. beta-amyloid ($A\beta$), jehož akumulace je spojená s rozvojem Alzheimerovy choroby (AD) (Lucey & Bateman, 2014), 2. alfa-synuklein (α Syn), který je markerem, spojeným s rozvojem Parkinsonovy choroby (PD) (Giasson et al., 2002) (Breydo et al., 2012).

Vytváří se tak začarovaný kruh, kdy snížená funkčnost glymfatického systému zhoršuje průběh neurodegenerativních procesů v důsledku zvýšené akumulace metabolitů v PVSs. Ty pak ještě více potlačují funkci glymfatického systému, což vede k ještě větší akumulaci metabolitů a úhynu neuronů. Vzhledem ke zhoršující se situaci s rozšířením neurodegenerativních nemocí, pozdním stadiu, kdy je nemoc diagnostikována a absenci účinné léčby je potřeba najít léčbu proti neurodegenerativním onemocněním velmi urgentní.

1.Struktura glymfatického systému.

Jak již bylo uvedeno, glymfatický systém je zodpovědný za oběh CSF a ISF. Jeho funkčními složkami jsou: Virchowovy-Robinovy prostory; pericyty a zakončení astrocytů; systém AQP astrocytů; struktury produkující a resorbující CSF; intersticiální prostory; a cesty likvorové cirkulace. Podle popisu struktury je zřejmé, že důležitou rolí ve fyziologicky správném fungování

systému hraje hematoencefalická bariéra (BBB), a to bude rozebráno podrobně v samostatné kapitole.

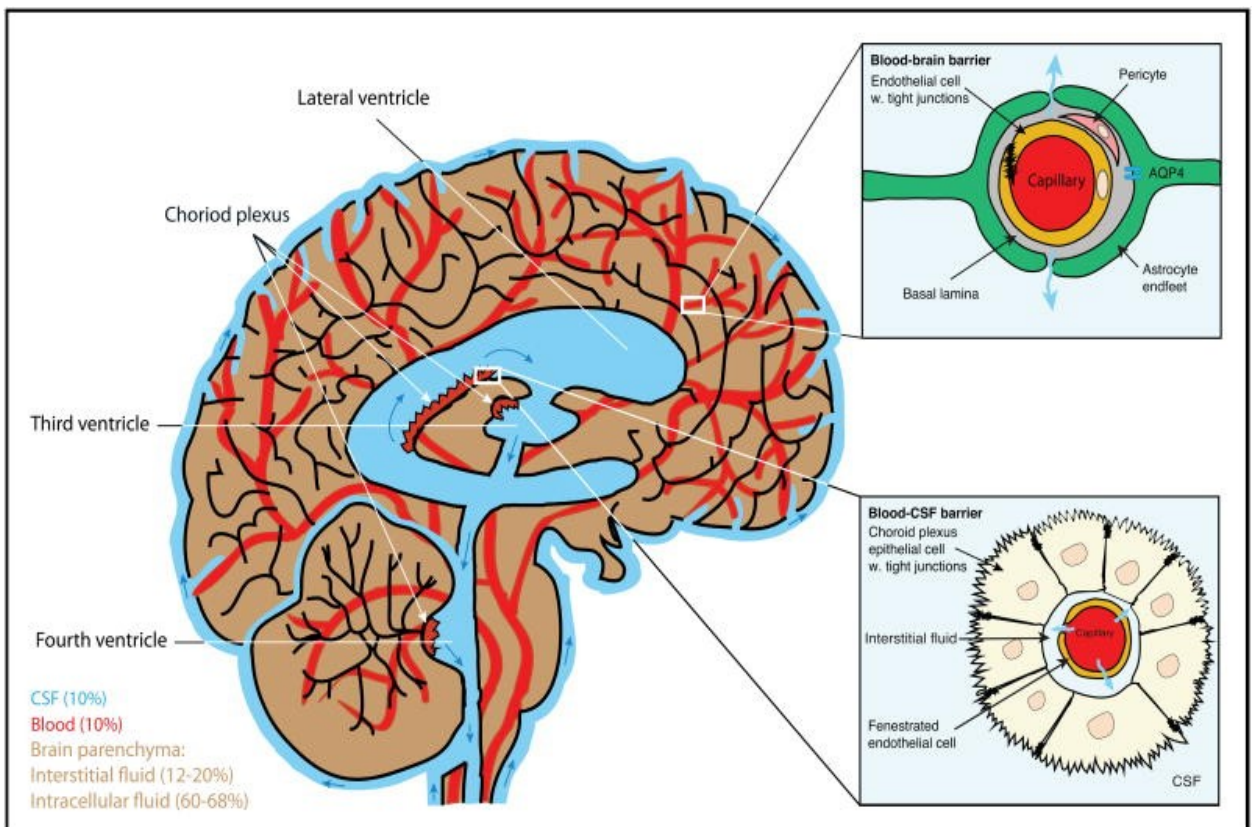
Cerebrální tepny přicházejí k mozku z oblasti základny lebky (Čihák, Radomír 2004). Jsou umístěny v dutinách cisteren a kanálů, které jsou naplněny mozkomíšním mokem. Na hranici s CSF jsou tepny pokryty arachnoidálními endoteliálními buňkami, které vytvářejí pia mater. Jak se tepny přibližují k povrchu mozku, přecházejí v tepny měkkých mozkových blan. Po vstupu do mozku tepny vytvářejí průnikové arterioly obklopené PVSs (Abbott, 2004). PVSs arterií a žil jsou obklopeny pia mater uvnitř a bazální membránou zakončení astrocytů vně, která slouží jako gliální mezibuněčná membrána (Mestre, Tithof, et al., 2018). Existence těsných spojení (TJ) v endotelu kapilár mozku je jedním z faktorů, který způsobuje oddělení intersticiálního a interkapilárního prostoru cév mozku (Nakada et al., 2017). Tok tekutiny do intersticiálního prostoru z těchto kapilár je zajištěn hydrostatickým tlakem, který vytváří systolická síla srdce, zatímco na kapiláry mozku tato síla nepůsobí. V důsledku toho jsou mechanismy cirkulace intersticiální tekutiny v mozku a periferním lymfatickém systému odlišné. Předpokládá se, že právě kanály AQP4 zajišťují selektivní propustnost pro vodu a některé rozpuštěné látky, což přispívá k vytvoření gradientu hustoty tekutiny a tím umožňuje její cirkulaci v PVSs mozku. Původně byly formulovány tři po sobě jdoucí fáze glymfatického čištění: **1)** CSF je produkován v choroidním plexu a nepřetržitě transportován z postranních komor do subarachnoidálního prostoru pokrývajícího mozkové hemisféry; z subarachnoidálního prostoru vstupuje do PVSs v toku řízeném prouděním; **2)** CSF je poháněn z PVSs do parenchymu za pomoci vodních kanálů AQP na astrocytárních zakončeních, což umožňuje míchání CSF s ISF a odstraňování odpadních látek (viz. obr. 3); **3)** Smíšené CSF a ISF s odpadními látkami jsou následně transportovány směrem k perivenóznímu kompartmentu větších centrálních žil, odkud nakonec vstupují do lymfatických cév a systémového oběhu (Iliff et al., 2012).

1.1. Produkce CSF a transport do subarachnoidálních komor

CSF je čirá tekutina s podobnou hustotou a viskozitou jako voda. Tradičně se předpokládalo, že CSF je produkován ve všech mozkových komorách, následně obíhá kolem mozku a míchy a většina z něj je absorbována do krevního oběhu skrze arachnoidální granule (Thomas et al., 1997). Avšak v současnosti je uznáváno, že existují další cesty, kterými CSF odtéká: různé perineurální dráhy (podél nervových vláken, například čichových nebo zrakových nervů, a skrze dřevnou desku do sliznice nosu) (Ma et al. 2017). Kromě toho bylo prokázáno, že CSF je produkován a absorbován všemi povrchy CNS, s nimiž přichází do styku (Oreskovic & Klarica, 2010).

Podle nejnovějších údajů se 80 % mozkomíšního moku (CSF) vytváří choroidními plexy mozkových komor, které jsou vysoce prokrvenou strukturou epitelových buněk (Redzic et al., 2005) (Milhorat, 1975) (viz. obr. 1). Proces tvorby CSF zahrnuje pasivní filtraci plazmy z kapilár plexu do mezibuněčného prostoru cévního pletence díky tlakovému gradientu; následně dochází k transportu filtrátu z mezibuněčného prostoru do dutiny mozkové komory prostřednictvím aktivace karboanhydrázy a membránových transportních proteinů (Nilsson et al., 1992). Karboanhydráza katalyzuje tvorbu iontů vodíku (H^+) a hydrogenuhličitanů (HCO_3^-) z vody a oxidu uhličitého. Transportní proteiny bazální membrány cévního pletence vyměňují H^+ , HCO_3^- za ionty sodíku (Na^+) a chloru (Cl^-). Prostřednictvím iontového čerpadla v apikální membráně se ionty sodíku (Na^+), draslíku (K^+) a chloru (Cl^-) dostávají do dutiny mozkové komory. Vodní transport, který je zprostředkován AQP1 v apikální membráně, probíhá díky osmotickému gradientu, který vytváří iontové pumpy. Transportní protein $NaK2Cl$ v apikální membráně provádí transport iontů v obou směrech a podílí se na regulaci sekrece CSF a jejího složení (Hutton et al., 2022).

Zbývajících 20 % CSF se tvoří ISF, která je produkována BBB (Redzic et al., 2005). Komunikace obou tekutin probíhá v PVSs obklopujících cévy mozku, které zásobují mozkový parenchym. Přibližná rychlost tvorby mozkomíšního moku je 0,4 ml/min, což představuje denně vyprodukovaných přibližně 500–600 ml (Damkier et al., 2013). Transport CSF z mozkových komor, kde se vytváří hlavní část CSF, do subarachnoidálního prostoru probíhá skrze dutiny a otvory, které tvoří cesty pro tok likvoru. Z laterálních mozkových komor proudí CSF skrze foramen interventriculare (Monro) do třetí mozkové komory a dále skrze akvedukt mozku do čtvrté mozkové komory. Odtud pak CSF putuje skrze boční otvory (Luschka) a středový otvor (Magendie) do bazálních cisteren mozku a následně přes velkou cisternu mozku do míšního prostoru (Aoki et al., 2019).



Obrázek 1 Schéma umístění tekutin a bariér v mozku (Převzato z Jessen et al. (2015).

Na obrázku je vidět objemové procentní rozdělení různých tekutin v mozku a mozkové komory. Krev je oddělená od CSF a ISF prostřednictvím BBB a krev-CSF bariéry. Jsou zobrazeny endoteliální buňky a těsné spojení mezi nimi, což tvoří BBB. Pomocí astrocytů a jejich exprese vodních kanálů AQP4 probíhá transport tekutin mezi PVR a parenchymem. Krev-CSF bariér také vytvořen těsnými spojení mezi buňkami choroidního plexu.

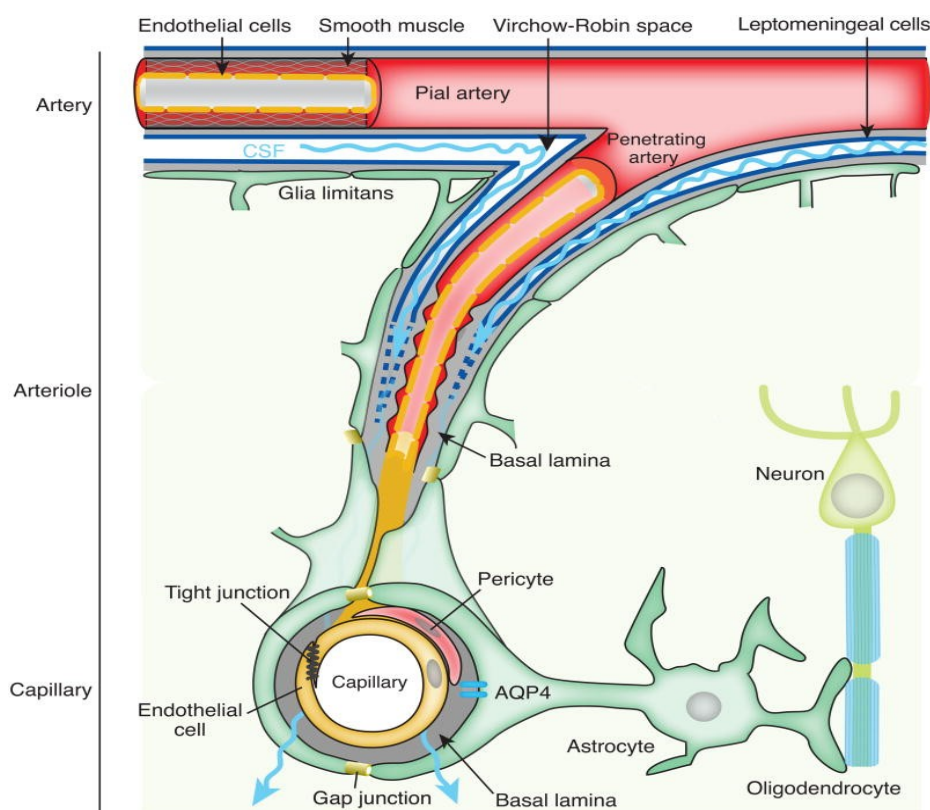
1.2. Funkce AQP4 v průniku CSF do parenchymu mozku

Aktuální poznatky naznačují, že AQP představují rodinu integrovaných membránových proteinů, které tvoří vodní kanály a usnadňují pohyb vody přes buněčné membrány podle osmotických gradientů. U člověka se dělí na 13 typů (AQP0...AQP12), přičemž jejich aminokyselinové sekvence jsou identické zhruba z 30–50 % (Verkman & Mitra, 2000). Primární funkcí AQP v CNS je transport vody, avšak konformační změny proteinu umožňují plazmatické membráně propustnost také pro glycerol, močovinu a některé plyny. Z tohoto důvodu jsou funkčně klasifikovány do 2 podtypů: ty, které transportují vodu (AQP0, 1, 2, 4, 5, 6 a 8), a ty, které transportují vodu a další látky (akvaglyceroporiny), jako je glycerol, močovina a některé plyny (AQP3, 7, 9, 10). (Matsuzaki et al., 2004) (Abbott et al., 2006).

V komplexním mechanismu oběhu tekutin a odstraňování metabolických produktů hraje klíčovou roli exprese vodních kanálů AQP4, jejichž nejvyšší koncentrace je pozorována v oblastech

zakončení astrocytů, které jsou nezbytné pro udržování integrity BBB a s tím spojených funkcí glymfatického systému (Xu et al., 2015). AQP4 je nejvíce rozšířeným vodním kanálem v mozku, míše a zrakovém nervu. Jeho lokalizace je převážně v astrocytárních zakončeních, které se dotýkají mikrokapilár a cévních pletiv, což naznačuje jeho úlohu při usnadňování toku vody do mozku a z něj (Mestre, Hablitz, et al., 2018). V buňkách ependymu a v hipokampu je AQP4 exprimován v celém povrchu plazmatických membrán. AQP4 je propustný pro vodu a CO₂ (Satoh et al., 2007). Jeho distribuce se liší v různých částech mozku; nejvyšší exprese je pozorována v hipokampu, amygdale, hypothalamu a mozkovém kmeni (Nagelhus & Ottersen, 2013). V míše a zrakovém nervu je AQP4 exprimován v perivaskulárních zakončeních astrocytů a mezi gliovými buňkami. Tato polarizovaná distribuce AQP4 může být výsledkem vnitrobuněčných interakcí s α -syntrofinem nebo extracelulárních interakcí s agrinem (Nagelhus & Ottersen, 2013). Zakončení astrocytů jsou připojeny ke stěně mozkových cév a dochází k výměně živin mezi endotelovými buňkami a mozkovým parenchymem. Uvolňují řadu biologicky aktivních látek, včetně cytokinů a neurotrofických faktorů (TGF- β , faktor růstu fibroblastů- β , IL-6), a exprimují transportní proteiny a receptory, zejména vodní kanál AQP4 (Zhang et al., 2022). AQP4 spolupracuje na odstraňování metabolitů mozkové tkáně, jako je A β . Je předpokládáno, že CSF proniká do PVSs penetrantních mozkových arteriol a mísí se s ISF. Následně CSF a ISF spolu s metabolity jsou odváděny z tkání mozku zase prostřednictvím perivaskulárních prostor do venul a žil, což také probíhá za pomoci AQP (Ilf et al., 2012).

To ukazuje na těsnou korelaci mezi funkčností AQP4 a clearance metabolitů, což potvrzeno ve studiích na myších s vypnutým genem AQP4, u nichž delece tohoto kanálu výrazně zhoršuje dysfunkci glymfatického clearance a vnitrobuněčné hromadění A β (Marin-Moreno et al., 2023) (Hablitz & Nedergaard, 2021). Navíc, delece genu pro AQP4 u myších modelů s AD nejen narušuje odstraňování A β z parenchymu, ale následně vede k horšímu prostorovému učení a paměťovým defektům, což také potvrzuje úlohu AQP4 v patogenezi AD (Zhang et al., 2020). Také je nutné zmínit, že bylo také zjištěno zvýšení exprese AQP1 astrocytů v kůře mozku u AD a její snížení v oblastech s hromaděním A β (Hoshi et al., 2012).



Obrázek 2. Neurovaskulární jednotka (Převzato z Jessen et al. (2015)).

Na obrázku pozorujeme schematické zobrazení průnikové arterioly obklopené PVSs. Prostřednictvím astrocytů neurovaskulární jednotka umožňuje obousměrnou vazbu mezi kapilárami (mikrovaskulatura) a neurony. Také je vidět, jak průnikové arterioly se větví na kapiláry, a spolu s tím i PVSs se zužují až zmizí, ale díky astrocytů je uskutečněn stálý transport CSF mezi arterioly a venulami. Zakončení astrocytů s AQP4 obklopuje celou vaskulaturu a formuje hranici PVSs.

Před tím, než začnu popis endogenních mechanismů cirkadiánní regulaci různých částí glymfatického systému, je důležité shrnout informace o tom, jaké jsou mechanismy cirkadiánní regulace a jak fungují.

2. Mechanismy cirkadiánní regulace

O cirkadiánní regulaci se jedná v případě, že je rytmický proces zajištěn vlastním vnitřním oscilátorem a udržován i v nepřítomnosti vlivu vnějšího regulátoru (Lowrey & Takahashi, 2004). Schopnost udržet 24hodinový denní rytmus je základní charakteristikou cirkadiánního systému, která organismu umožňuje přizpůsobit se denním cyklům v okolním prostředí.

Funkce cirkadiánního systému je zajištěna čtyřmi hlavními komponentami:

1. Fotosensitivními neurony sítnice a retinohypotalamickým traktem, skrze který přicházejí světelné signály z okolního prostředí k centrálním hodinám;

2. Centrálními hodinami (pacemakerem), které endogenně generují cirkadiánní rytmus a synchronizují jej s okolními cykly;
3. Signálními cestami, skrze které je informace od centrálních hodin předávána k periferním generátorům rytmu (tzv. periferním hodinám);
4. Periferními hodiny, které rytmicky řídí procesy v periferních buňkách.

Centrální hodiny jsou uloženy v párových suprachiasmatických jádrech (SCN) v přední části hypothalamu (Inouye & Kawamura, 1979). Každé SCN se skládá z 8000–10 000 neuronů, autonomně generujících cirkadiánní rytmus, což bylo potvrzeno experimenty s izolací jednotlivých buněk in vitro (Welsh et al., 2010). Vnitřní perioda oscilací SCN je přibližně (ale ne přesně) 24 hodin, takže se v přirozených podmínkách synchronizuje s 24 - hodinovým cyklem otáčení Země. Tento proces, známý jako světelná synchronizace (photoc entrainment), je zajištěn monosynaptickou dráhou ze sítnice do SCN – retinohypotalamickým traktem (Moore & Lenn, 1972). Světlo působí na podskupinu fotosensitivních gangliových buněk sítnice, které obsahují protein melanopsin (Provencio et al., 1998). Vlivem světla v spektru 480–460 nm (modré světlo) jsou následně gangliové buňky depolarizovány, čímž se signál přenáší do SCN (Pittendrigh, 1960). Nicméně, v experimentech na myších modelech, které měli genetický vypnutý gen pro melanopsin, a myšmi s vrozenou absencí fotosensitivních buněk, bylo prokázáno, že i tyčinky a čípky jsou schopny částečně převzít tuto funkci, a účastní se tak světelné synchronizace (shrnutí v Fifel (2017)).

Výsledky několika experimentů s použitím genetických, molekulárních a biochemických metod u mnohobuněčných organismů ukázaly, že téměř všechny buňky generují vlastní denní rytmus, a navíc se fyziologické procesy, jako jsou změny tělesné teploty, sekrece hormonů, příjem potravy, také účastní synchronizace jednotlivých oscilátorů cirkadiánního systému (Dibner et al., 2010). SCN je v tomto kontextu považováno za centrální synchronizátor, který spojuje mnoho periferních pod-systémů generujících rytmy do jednoho systému.

Jedním z hlavních hormonálních regulátorů cirkadiánních rytmů je melatonin, který se tvoří v mnoha tkáních organismu, včetně sítnice a žaludečně-střevního traktu (Bubenik & Konturek, 2011). Hlavním zdrojem sekrece melatoninu v plasmě je epifýza (Aaron et al. 1958). Hladiny melatoninu vykazují cirkadiánní rytmus a jsou vysoké během noci a nízké během dne díky spojení mezi SCN a epifýzou. Rytmičké signály z SCN se přenášejí do paraventrikulárního jádra hypothalamu, po čemž do intermediolaterálního sloupce míchy odkud dosáhnou horního krčního ganglia. Sympatická postganglionární noradrenergická vlákna uvolňují noradrenalin, který působí

na postsynaptické beta-1- a alfa-1-adrenoreceptory v buňkách epifyzy, které spouštějí syntézu melatoninu (shrnutí v Gnocchi and Bruscalupi (2017)).

Vzrušení SCN pod vlivem světla způsobuje ne aktivaci, ale inhibici neuronů horního krčního uzle. Tyto buňky tedy snižují uvolňování noradrenalinu, a epifyza v reakci na to snižuje sekreci melatoninu (Cipolla-Neto et al., 2014). Takže v noci se sekrece melatoninu zvyšuje, během dne klesá. Navíc, je zajímavě, že existují studie, ve kterých byly prokázány neuroprotektivní účinky melatoninu při neurodegenerativních nemocích, a naopak je kvůli poruchám spánku sekrece melatoninu může nepřímo korelovat s funkčností glymfatického systému. Melatonin snižuje toxicitu A β a zabrání apoptóze v experimentálních modelech AD, a také snižuje oxidační stres v modelech PD (Bubenik & Konturek, 2011).

Klíčové geny biologických hodin savců zahrnují gen *Bmal*, který pracuje v páru s genem *Clock*, rodinu genů *Per* (jejich varianty: *Per1*, *Per2*, *Per3*) a geny *Cry* (jejich varianty: *Cry1*, *Cry2*). Existují také další geny, které jsou buď přímo ovlivněny transkripčními faktory produkovanými klíčovými geny, nebo mohou být součástí komplexních regulačních sítí (nazývají se clock-controlled genes, dále ccg).

Proteiny CLOCK/BMAL tvoří pozitivní článek smyčky zpětné vazby, zatímco proteiny PER/CRY tvoří negativní článek. Pro projev své funkční aktivity musí CLOCK/BMAL a PER/CRY tvořit mezi sebou páry – heterodimery, první (CLOCK/BMAL – projevující funkci aktivátorů transkripce genů druhého páru až po své dimerizaci) a druhá (PER/CRY – vstupující do jádra a inhibující transkripci prvního páru genů také až po své dimerizaci) (Takahashi et al., 2008).

Je třeba poznamenat, že v SCN se mRNA a příslušné proteiny BMAL, PER a CRY tvoří rytmicky, v určitých fázích denního cyklu, zatímco produkce mRNA a proteinu CLOCK probíhá neustále (Maywood et al., 2003). Akrofáze transkripce *Bmal1* mRNA připadá na střední a druhou polovinu temné fáze dne.

Aktivátory BMAL1 a CLOCK se vážou na regulační úsek DNA E-box – specifický hexanukleotidní (CACGTG/T) fragment promotoru, který rozpozná "startovací" transkripční faktor heterodimer CLOCK/BMAL1, čímž se aktivují geny *Per* a *Cry*. Pro zajištění funkční aktivity heterodimeru CLOCK/BMAL1 (pro počátek exprese *Per* a *Cry*) je vyžadována předchozí acetylace chromatinu (Etchegaray et al. 2003), čímž vzniká krátkodobé "cirkadiální okno", což zajišťuje jemné ladění fáze biologických hodin. Rytmicky probíhající procesy acetylace, deacetylace a methylace histonů významně přispívají k regulaci cirkadiální rytmicity jako celku (Ripperger & Meroz, 2011).

Dvě hodiny po aktivaci hodinových genů nástroje negativního článku v buňce je pozorován vrchol koncentrace odpovídající mRNA, a v odpoledních hodinách (v polovině světelné fáze za laboratorních podmínek) se hromadí maximální množství proteinů PER a CRY.

Tyto proteiny se nejprve koncentrují v cytoplazmě buněk, kde, po dobu přibližně 4 hodin, dosáhnou prahové úrovně, dostatečné pro vytvoření PER komplexu (PER/CRY), skládajícího se ze třech proteinů PER a dvou proteinů CRY, což připadá na večerní hodiny, který poté se postupně transportují do jádra. Tam je aktivita komplexu PER/CRY zaměřena na potlačení funkcí heterodimeru BMAL1/CLOCK prostřednictvím vytvoření s nimi složité konstrukce s přizvanými dalšími transkripčními inhibitory, což vede k pozdější inhibici transkripce *Per* a *Cry*. Represe přepisu genů *Per1* je způsobena přizváním komplexu SIN3-HDAC3 (regulátor transkripce SIN3 + histon-deacetyláza 3) (Duong et al., 2011). Při represii *Per2* je pravděpodobně zapojena HDAC1, histon-deacetyláza 1 (DiTacchio et al., 2011).

Poté se proteiny PER a CRY postupně rozkládají (pomocí mechanismů fosforylace a ubiquitinace), a BMAL1 a CLOCK znovu zahájí další denní cyklus v buňce – zahájením přepisu hodinových genů *Per* a *Cry*.

Druhá smyčka negativní zpětné vazby u savců je podmíněna interakcím proteinů REV-ERB α a RORA s prvkem RORE (retinoic acid-related orphan receptor response element) – regulačním úsekem promotoru genu *Bmal* (Ueda et al., 2002). První proteinový produkt, REV-ERB α , je členem rodiny jaderných receptorů REV-ERB, váže se k promotorovému úseku BMAL a brání jeho transkripci. Takový supresivní účinek REV-ERB α je zprostředkován přizváním komplexu NCoR/HDAC3 (jaderný ko-represor + histon-deacetyláza 3) (Yin et al., 2010). Akrofáze tvorby proteinů REV-ERB α připadá na střední světelnou fázi dne. Tak REV-ERB α zpomaluje tvorbu mRNA a proteinu BMAL, posouvající jejich akrofázi – na noční a časně ranní hodiny. Druhý proteinový faktor rodiny jaderných receptorů, RORA (retinoidní orfální receptor alfa), interagující s tím samým promotorovým úsekem BMAL (RORE), působí jako aktivátor jeho transkripce (Sato et al., 2004). Heterodimer CLOCK/BMAL následně přispívá k transkripci genu *REV-ERB α* , a tím se uzavírá druhý okruh zpětné vazby. U zvířat, kterým chybí gen *REV-ERB α* (*Rev-erba*^{-/-}) chovaných v trvalé tmě, se pozoruje zrychlení cirkadiánní rytmicity: významné zkrácení hodnoty cirkadiánní periody <24 hodin, a atypický charakter fázového přizpůsobení na světelný stimul (Preitner et al., 2002).

Mezi nejdůležitější a podrobně prozkoumané ccg můžeme zmínit ty, které jsou také aktivovány heterodimerem CLOCK/BMAL, protože nesou E-box v jejich promotorech. Mezi ně patří geny

jako *Dbp* (kódující rekombinantní protein D, vážící se na promotor albuminu, site albumin promoter-binding protein D) a *Avp* (kódující arginin-vasopresin) (Jin et al., 1999).

Také je důležité zmínit, že v regulaci exprese genů obou řetězců hraje důležitou roli NAD⁺ závislá deacetyláza histonů SIRT1 (sirtuin 1). SIRT1, jakožto jedna z variant HDAC, funguje jako protíváha k acetyltransferázové aktivitě CLOCK (Nakahata et al., 2008).

3.Hematoencefalická bariéra

Ted, když základní cirkadiánní mechanismy jsou popsány, je možné přistoupit k popisu nejdůležitějších projevů cirkadiánní regulace glymfatického systému (Mukherji et al., 2013). Jak již bylo řečeno na začátku, nejdůležitější částí glymfatického systému je BBB, která představuje složitý systém, zahrnující různé vysoce specializované typy buněk (Kaplan et al., 2020). Anatomické části, které tvoří strukturu bariéry, nejen chrání mozek, ale také regulují jeho životně důležité funkce, výživu a vylučování metabolických produktů. Bariéra je tvořena funkčně a anatomicky propojenými endotelovými buňkami kapilár mozku, astrocyty, neurony a pericyty, a spolu s mezibuněčnou hmotou tyto buňky vytvářejí neurovaskulární jednotku (viz. obr. 2).

3.1.Endotelové buňky

Endotelové buňky kapilár mozku se zásadně liší od endotelových buněk v jiných tkáních. Hrají jednu z hlavních rolí v přímé regulaci propustnosti BBB. Pro endotelové buňky neurovaskulární jednotky je charakteristický zvýšený obsah mitochondrií (Oldendorf et al., 1977), absence fenestrací kapilár (Fenstermacher et al., 1988), minimální pinocytozní aktivita a přítomnost TJ, které významně omezují propustnost (Brightman & Reese, 1969).

TJ mezi endotelovými buňkami představují fyzickou bariéru, která omezuje transport většiny molekul a sloučenin přes mezibuněčný prostor, což vede k transportu látek přes cytoplazmu buňky. Molekulární složky těsných spojů lze rozdělit na transmembránové a cytoplazmatické proteiny. K transmembránovým proteinům patří okludiny (Furuse et al., 1993), spojovací molekuly adheze (junctional adhesion molecules) (Martin-Padura et al., 1998), a klaudiny (Furuse et al., 1998). Dominantním proteinem endoteliálních buněk mozku je klaudin-5 (Hudson et al., 2019), ale v menší míře jsou také exprimovány klaudiny -3, -10, -12 a pravděpodobně některé další (Ohtsuki et al., 2008). Jeho exprese za fyziologických podmínek brání průchodu léčiv přes bariéru, a dlouhodobé potlačení jeho regulace vede ke vzniku neurologických onemocnění (Hashimoto et al., 2021).

Klaudiny a okludiny jsou umístěny ve dvoubuněčných kontaktech a jsou prozkoumány minimálně dva mechanismy jejich cirkadiánní regulace (Langen et al., 2019):

1. TJ proteiny podléhají cirkadiánní regulaci na úrovni mRNA a proteinů (Hoogerwerf, 2006). Byla prokázána závislost časových oscilací hladin mRNA okludinu a kladinu-1 u myši divokého typu na rozdíl od myších modelů s narušeným cirkadiánním rytmem, což vede k poruchám funkce BBB (Kyoko et al., 2014). Studie ukazují, že protein kladin-5 je také závislý na cirkadiánní kontrole, což bylo zaznamenáno při vlivu RNAi-mediated knock-down *Bmal1* na integritu bariéry krev-retina (Hudson et al., 2019). Endotelové buňky exprimují velké množství ABC transportérů, které také omezují permeabilitu bariéry a podléhají regulaci autonomním cirkadiánním rytmem a neurony. Mezi sedmi identifikovanými typy transportérů, nalezenými u člověka a zahrnujícími více než čtyřicet různých druhů, tři z nich jsou exprimovány a působí v BBB. Jsou to ABCB1 (P-glykoprotein), ABCC1, ABCC4 a ABCG2 (BCR protein). V těchto studiích se zjistilo, že intenzita exprese a práce ABC transportérů koreluje s aktivitou neuronů (Weksler et al., 2005). To potvrzuje, že existuje fyziologický mechanismus udržení rovnováhy mezi metabolicky náročnou aktivitou neuronů a následujícím čištěním metabolitů. To znamená, že v době vysoké aktivity organismu je zpomalená exprese ABC transportérů, a během fáze odpočinku transportéry naopak fungují intenzivněji. Například rychlost transportu přes BBB je vyšší během světlé části dne, kdy myši odpočívají než ve tmě, kdy myši jsou více aktivní (Pulido et al., 2020).
2. Další možný mechanismus cirkadiánní regulace endotelových buněk mozku je závislý na transportérech hořčičků TRPM7. Kvůli tomu, že se Mg^{2+} spolupodílí na regulaci periodicity a amplitud cirkadiánních oscilací a sám je regulován molekulárními hodinami, změna jeho koncentrace uvnitř buněk během dne může významně ovlivňovat probíhající fyziologické procesy (Feeney et al., 2016). Podle studie Zhang a kol., BMAL1 může interagovat s promotorem *TRPM7*, což vede k rytmické regulaci transkripce a translace tohoto transportéru, a přes změny v expresi TRPM7 může také probíhat cirkadiánní regulace BBB (Zhang et al., 2021). Také existují důkazy větší aktivity ATP-závislého transportéru P-glykoprotein během period větší aktivity jedinců, a navíc tyto transportéry se nachází pod cirkadiánní kontrolou, a spolupodílí na clearance $A\beta$ v mozku (Cuddapah et al., 2019) (Cirrito et al., 2005).

3.2. Astrocyty

Astrocyty regulují činnost všech transportních systémů neurovaskulární jednotky a BBB (Abbott, 2004), plní funkci udržení homeostázy nutrientů, cirkulace neurotransmiterů, ale také třeba spolupracují na imunitních reakcích (Giovannoni & Quintana, 2020). Bylo zjištěno, že astrocyty specificky ovlivňují rozvíjející se cévní tkáň a určují vlastnosti endotelových buněk BBB (Stewart & Wiley, 1981). Bylo také zjištěno snížení funkční aktivity endotelových buněk při dočasné

lokální destrukci astrocytů, s následným obnovením aktivity BBB (Willis et al., 2004). Na astrocytech závisí hydrodynamika glymfatického systému, díky nim systém podléhá každodenním změnám, a hypoteticky hrají důležitou roli v jeho cirkadiánní regulaci (Heithoff et al., 2021). Podle studie Hablitz a kol., se předpokládá, že alespoň částečně je tato cirkadiánní regulace realizována prostřednictvím perivaskulární polarizace AQP4 na zakončeních astrocytů, která je nejvíce výrazná během spánku (Hablitz & Nedergaard, 2021). Podle jejich prací celý glymfatický clearance a odtok CSF z mozku podléhá cirkadiánní rytmicitě i při vystavení stálému světlu. Kromě toho, genetická delece genu pro AQP4 u myši odstraňuje rozdíly mezi dnem a nocí jak v glymfatickém přítoku, tak v odtoku tekutiny (Zhang et al., 2020). To je potvrzeno dalšími pracemi, které naznačují, že za nastavení periodicity cirkadiánního chování mohou nést odpovědnost astrocyty v SCN. A už uvedená genetická delece AQP4 eliminuje cirkadiánní regulaci v pohybu likvoru (Lananna et al., 2018). Astrocyty hrají důležitou roli při určování cirkadiánní periodicity a mohou regulovat rytmicitu u myši i v nepřítomnosti neurálních rytmů (Brancaccio et al., 2019). V SCN jsou rytmy činnosti astrocytů regulovány excitačním glutamerním signálem a inhibičním gabaerním signálem, což ovlivňuje buněčný metabolismus a homeostázu glukózy v celém těle (Brancaccio et al., 2017) (Patton et al., 2023). Regulační role astrocytů v SCN byla také potvrzena při zkoumání vlivu delecí *Bmal1*, což vede k poruše regulaci cirkadiánních rytmů (Tso et al., 2017). Navíc ztráta *Bmal1* v astrocytech vede k reaktivní glióze, dysfunkci endozomů a poruše homeostázy $A\beta$, a navíc astrocyty mohou každodenně procházet morfologickými změnami (McKee et al., 2023). Také regulují intracelulární vápníkové a chloridové signály v závislosti na stavu spánku/bdění, což může ovlivňovat rychlost toku tekutin (Wang et al., 2023).

3.3. Pericyty

Pericyty, známé také jako Rougetovy buňky, jsou prodloužené mnohoústrojové buňky ležící podél dlouhé osy kapiláry. V cytoplazmě pericytů je charakteristická přítomnost fibrilárních prvků a mikropinozotózních váčků, na membránách kterých je zjištěna ATPázová aktivita (Hariharan et al., 2022). Mnoho výběžků obklopuje kapiláry a venuly a kontaktuje s endoteliálními buňkami a axony sympatických neuronů. Přenášejí nervové vzrušení od neuronu k endotelovým buňkám, což vede k akumulaci nebo ztrátě tekutiny buňkou. To zase vede k rozšíření nebo stahování lumenu cév (Peppiatt et al., 2006). V případě absence pericytů je pozorována endoteliální hyperplazie, patologická vaskularizace mozku a zvýšená průchodnost BBB (Armulik et al., 2010). Ale existuje studie, ukazující na to, že také podléhají cirkadiánní regulaci. Deficit BMAL1 u myších modelů vede k jejich degeneraci s věkem a zvýšení propustnosti BBB. Navíc, delece *Bmal1* inhibuje produkci faktoru, nutného pro regeneraci a proliferaci nových pericytů, což také vede ke ztrátě funkčnosti BBB (Nakazato et al., 2017) (Mae et al., 2021).

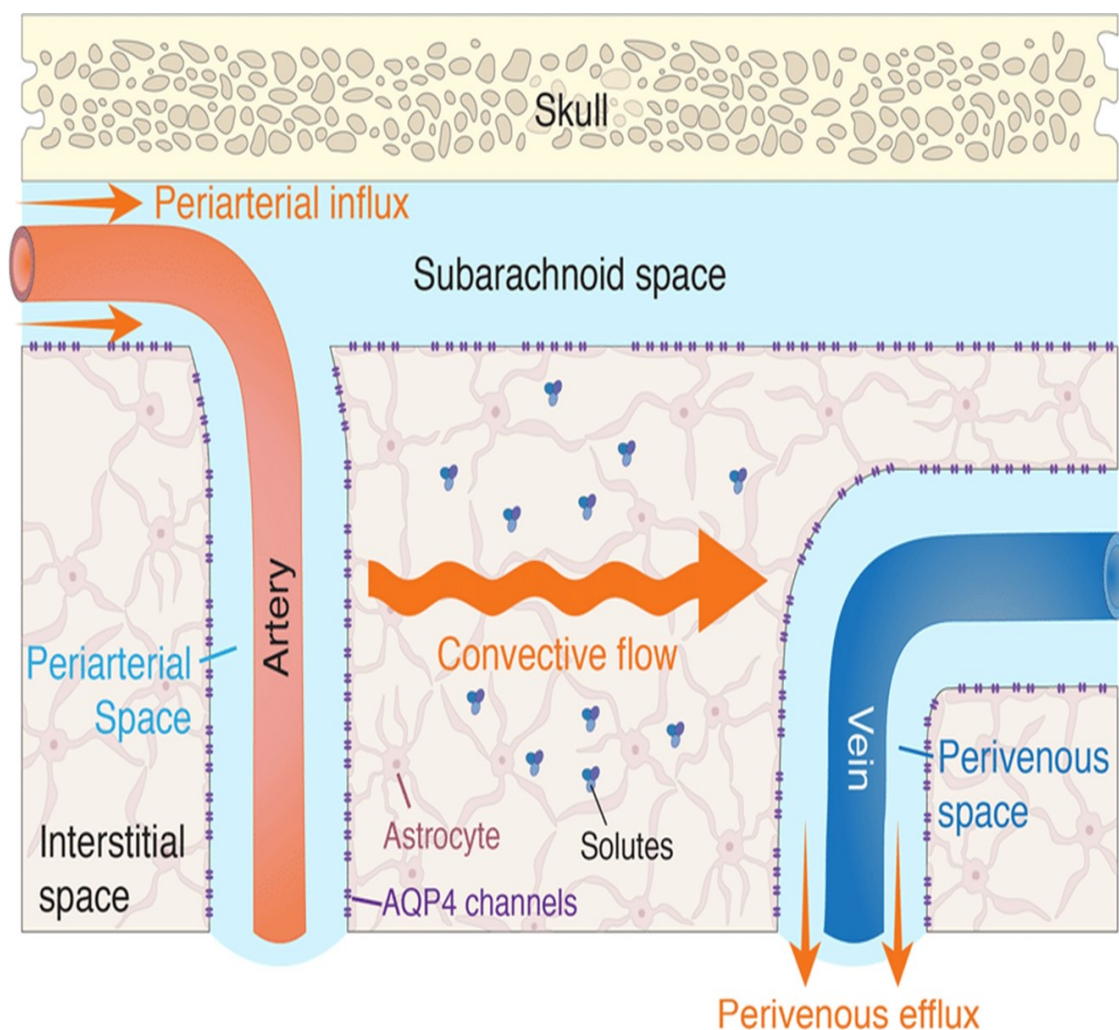
4. Glymfatický systém a cyklus spánek-bdění

Glymfatický systém je nejaktivnější v nočních hodinách u denních živočichů a člověka, což může být spojeno s několika faktory. Zaprvé, v důsledku převahy parasympatických vlivů právě v noci je pozorováno nejaktivnější produkce CSF, což je nezbytné pro zajištění adekvátní perivaskulární drenáže (Hablitz et al., 2020). Kromě toho snížení aktivity sympatického systému vede k zvýšení objemového podílu intersticiálního prostoru. Přechod od bdění ke spánku, kdy se hladina noradrenalinu v mozku snižuje, je spojeno s nárůstem velikosti intersticiálního prostoru, což přispívá k zvýšení konvektivní výměny CSF s ISF a vede k zvýšení clearance rozpuštěných látek (Sherpa et al., 2016) (Holth et al., 2019).

Je pozoruhodné, že během celkové anestezie dochází k podobným změnám, což zdůrazňuje důležitou roli úrovně bdělosti s následnou změnou vegetativní regulace (Xie et al., 2013). Například studie na myších ukázaly zdvojnásobení glymfatického clearance radioaktivně značených amyloidogenních proteinů během spánku ve srovnání s bdělým stavem (Ju et al., 2017).

H. Lee a kolegové zjistili, že nejen délka nočního spánku, ale také poloha hlavy v této době může ovlivnit fungování glymfatického systému (Lee et al., 2015). Použitím moderních neurozobrazovacích metod s kontrastním zvýrazněním v modelech in vivo se vědcům podařilo zaznamenat zrychlení glymfatického toku, když byly myši umístěny na bok ve srovnání s polohami na břicho nebo na zádech.

V roce 2013 provedli L. Xie a kolegové výzkum efektivity glymfatického systému během fáze spánku s pomalými vlnami a poskytli první přímé důkazy o tom, že vylučování produktů obsažených v intersticiu se zvyšuje během stavu klidu (Xie et al., 2013). Změny v efektivitě výměny CSF a ISF mezi bdělým a spícím mozkiem jsou způsobeny rozšířením a zúžením extracelulárních prostorů, které se během spánku zvětšuje o přibližně 60 %, což přispívá k lepšímu očištění od intersticiálních odpadů. Na základě těchto výsledků byla navržena hypotéza, že regenerační vlastnosti spánku mohou být spojeny se zvýšeným glymfatickým clearance produktů metabolismu, které vznikají v důsledku nervové aktivity v aktivním mozku.



Obrázek 3. Pohyb CSF přes parenchym mozku (Převzato z Ng Kee Kwong et al. (2020)).

CSF z PVSs pomocí astrocytů proniká do parenchymu a díky pulzaci cév se pohybuje do PVSs obklopujících venuly, a tím pohybem a mísením s ISF odstraňují metabolity z mozku.

Studie hydrodynamiky likvoru obsahující fluorescenčně značené lipidové izoformy apolipoproteinu E (ApoE) ukázala významné snížení clearance mnoha látek z interstitia při deprivaci spánku (Achariyar et al., 2016). Glymfatický systém dodává ApoE do mozku převážně během spánku prostřednictvím periarteriálního prostoru a nerovnováha tohoto fyziologického clearance může přispívat k rozvoji specifických poruch izoform ApoE v dlouhodobém horizontu (Carver et al., 2014). Fragmentace spánku vyvolává progresi symptomatických projevů AD, indukuje neurozáněť, akumulaci A β a fosforylaci tau proteinu (Vasciaveo et al., 2023).

Byl také zkoumán vztah mezi variantami v lidském genu AQP4 a kognitivními funkcemi, kvalitou a parametry spánku (Rainey-Smith et al., 2018) (Burfeind et al., 2017). Bylo zjištěno, že genetická variabilita AQP4 není pouze spojena se snížením kognitivních funkcí při vývoji neurodegenerativních onemocnění, ale také moduluje vztah mezi spánkem a hladinou A β v mozku.

Získaná data na modelech in vivo otevírají možnost pro nové klinické studie, protože úroveň exprese astrocytárního AQP a jeho role v glymfatickém systému jako celku mohou představovat prognostický marker počátku neurodegenerativního procesu v rané diagnostice (Tithof et al., 2022), (Zhou et al., 2020), (Kamagata et al., 2022), (Gordleeva et al., 2020). Navíc při zkoumání vztahu cyklu "spánek-bdění" a transportu metabolitů v kontextu vývoje neurodegenerativních onemocnění je třeba zohlednit genetické varianty AQP4 a jejich vliv na architekturu spánku. Ve studii P. Venkat a kol., bylo prokázáno, že množství AQP4 u myši přímo koreluje s úspěšností splnění různých kognitivních úkolů (test rozpoznávání objektů, vůní a vodní Morrisovo bludiště), což také potvrzuje spojení glymfatického systému s klinickými rysy a progresí onemocnění (Venkat et al., 2017).

D. Zeppenfeld a kol., (Zeppenfeld et al., 2017) během výzkumu vzorků lidského mozku po smrti zjistili, že snížení počtu prezentovaných pórů vytvořených AQP4 je spolehlivým prediktorem přítomnosti AD a přímo koreluje s počtem amyloidních plaků. Absence významných změn polarizace AQP4 u kognitivně zachovalých jedinců ve věku nad 85 let dodatečně potvrzuje přímou souvislost rizika AD s funkcí glymfatického systému. Ačkoli role polarizace AQP4 v rozvoji kognitivních poruch vyžaduje další studium, jedná se o perspektivní směr pro další výzkumy (Da Mesquita et al., 2018). Je zajímavé, že zvýšení rizika AD bylo pozorováno i při poruše konečné fáze glymfatické dynamiky likvoru. Poranění meningeálních lymfatických cév, které jsou nezbytné pro konečnou absorpci tekutiny z PVSs a její odstranění z mozku, přispělo k ukládání A β přímo do samotných mozkových plášťů a zvyšovalo akumulaci A β v parenchymu mozku. Na základě těchto údajů autoři dospěli k závěru, že obnova funkce lymfatických cév měkkých mozkových obalů může být dalším perspektivním terapeutickým cílem pro snížení rizika následného rozvoje AD (Louveau et al., 2018).

4.1. Fyziologický vyznám spánku

Zcela nová hypotéza o funkci spánku a jeho úloze v patogenezi různých poruch byla představena skupinou vědců pod vedením I. Lundgaard a kol., a je spojena právě s funkcemi glymfatického systému (Lundgaard et al., 2017). Podle této práce se během bdění hromadí různé tzv. "nesprávně složené" proteiny s deformovanou strukturou, které nelze "uspořádat a opravit" chaperony a nejsou vystaveny proteolýze. K nim patří i protein A β -42, který se také normálně tvoří během dlouhodobého bdění. D.Holtzman a jeho kolegové zjistili, že hladina rozpustného A β stoupá během bdění a klesá během spánku (Kang et al., 2017).

Podle této hypotézy aktivace glymfatického systému během fáze spánku s pomalými vlnami zvyšuje průtok CSF, což přispívá k likvidaci tohoto markeru. Dochází k "očištění" mozku od A β , což usnadňuje odstranění "usazenin" proteinů, které tvoří amyloidové plaky. Takže fragmentace

spánku s deformovanou architekturou, při níž se pozoruje zkrácení anebo absence přítomnosti fáze spánku s pomalými vlnami, určuje zvýšené riziko AD při takové patologii spánku jako je syndrom apnoe (Kim et al., 2011). Tento fakt byl prokázán ve studii R.S. Osorio a kol. (Osorio et al., 2015). V roce 2016 byla publikována práce L. Kheirandish-Gozal a kol., kteří zkoumali obsah A β -42 u dětí s apnoe, kde byla demonstrována možnost hodnocení tohoto biomarkeru v séru. Bylo zjištěno významné zvýšení hladiny A β -42 ve srovnání se zdravými jedinci u dětí s obezitou (o 1,3krát), syndromem obstrukční spánkové apnoe (o 2,2krát) a nejvyšší úroveň byla pozorována u dětí trpících syndromem apnoe a obezitou současně (více než 4krát) (Kheirandish-Gozal et al., 2016).

V další studii byla zhodnocena původní hladina β -amyloidu-42 v krevním séru u 24 pacientů s těžkou apnoe a jeho obsah po odstranění přerušované hypoxie a obnovení normální struktury spánku (Madaeva I., 2019). Výsledky té pilotní studie ukázaly, že zvýšení fáze spánku s pomalými vlnami přispívá k zvýšení eliminace A β -42.

5. Neurodegenerativní nemoci

Jedním z mechanismů vedoucích k cirkadiálním poruchám je poškození struktury v důsledku neurodegenerativních procesů probíhajících v mozku člověka, což je typické pro osoby trpící AD a PD (Lee et al., 2007). Jak již bylo uvedeno na začátku, tato práce se primárně zaměřuje na tyto dvě nejvíce prozkoumané neurodegenerativní nemoci. Poruchy cirkadiálních rytmů a poruchy cyklu spánek-bdění se vyskytují u nejméně 30-50 % pacientů s AD, a u 75 % pacientů s PD (Zhang et al., 2016). Spojení mezi glymfatickým systémem, poruchami cirkadiální regulace, spánku a demencí může být podmíněno akumulací A β v mozkových oblastech, které regulují spánek. Ten vztah byl experimentálně potvrzen pomocí pozitronové emisní tomografie (PET) (Mander et al., 2015). Zároveň vědci spojují krátkou dobu spánku s vyšší akumulací A β , což bylo potvrzeno PET skenováním pacientů s AD a krátkým spánkem (Spira et al., 2013).

Změněné neurony se již v raných stádiích onemocnění nacházejí v jádrech mozkového kmene, hypotalamu a předním mozku – centrech regulace spánku, bdění a cirkadiálních rytmů. Konkrétně jsou postiženy noradrenergní neurony locus caeruleus, cholinergní neurony pedunkulopontinního jádra a předního mozku, serotoninergní neurony nucleí raphes, dopaminergní neurony předních částí středního mozku a orexinergní neurony laterálního hypotalamu (Saper et al., 2005).

5.1. Alzheimerová choroba

U pacientů s AD mohou poruchy spánku souviset se změnami v neurotransmitterových systémech, zejména v cholinergním systému, který hraje klíčovou roli v aktivaci retikulární formace. Dysfunkce cholinergního systému kvůli akumulaci A β může vést k nedostatku REM fáze spánku. Také je ovlivněn noradrenergní systém, což může způsobit snížení REM fáze spánku a hladiny

melatoninu (Kang et al., 2017). U pacientů s AD je pozorováno nízké množství melatoninových receptorů a změna rytmicity jeho produkce (Rothman & Mattson, 2012).

Studie také ukazují, že nejen glymfatický clearance, ale také produkce A β v mozku koreluje s 24hodinovým cyklem spánku-bdění (Cedernaes et al., 2017). Tyto údaje naznačují možnou roli poruch spánku v patogenezi AD (Lucey & Bateman, 2014). Studie na hlodavcích ukázaly, že omezení spánku na 6 hodin denně zvyšovalo hladinu A β a tau proteinu v kortexu dvojnásobně (Rothman et al., 2013). Experimenty s prodloužením světelné doby také ukázaly zvýšení produkce nerozpustné frakce tau proteinu (Tyler et al., 2014).

V regulaci hladiny A β je také prozkoumaná role orexinů. Orexiny jsou neurotransmitery regulující bdění. Studie ukázaly snížení obsahu orexin-pozitivních neuronů u pacientů s AD (Fronczek et al., 2012). V experimentech s dlouhodobou deprivací spánku u myší byla pozorována aktivace formování amyloidních plaků, a antagonisté receptorů orexinu snižovali jejich formování (Urrestarazu & Iriarte, 2016).

Jak bylo již výše uvedeno, porucha funkcí BBB a s tím i glymfatického systému přispívá k patologii a komplikuje terapii. Existují však studie, které ukazují, že BBB nereguluje pouze homeostázu amyloidů prostřednictvím clearance. Při porušení clearance a dysfunkci BBB dochází k nadprodukci A β zesílením aktivity enzymů beta a gama sekretázy prostřednictvím neurozánětlivých signálů (Cai et al., 2018). To je důležité, protože právě tyto enzymy se podílejí na generaci A β cestou postupného štěpení prekursoru amyloidního proteinu (A β PP) (Atwal et al., 2011). Byl prozkoumán vztah mezi receptorem konečných produktů glykace (RAGE) a transportem A β přes BBB a jeho hromadění v endotelových buňkách mozku (Deane et al. 2003). Gen *Psen2*, který reguluje úroveň A β , demonstruje cirkadiánní rytmicitu a pravděpodobně je regulován komplexem CLOCK/BMAL1 prostřednictvím transkripčních a posttranslačních mechanismů (Panda et al., 2002). Z výzkumu vyplývá, že cyklus hromadění A β na molekulární úrovni vypadá takto: A β způsobuje posttranslační degradaci BMAL1, což vede k snížení vazby na promotor *Per2* a následným poruchám transkripce a translace *PER2* (Song et al., 2015). Také v mechanismu hraje významnou roli oxidativní stres – ztráta funkčnosti BMAL1 a CLOCK vede k poruše exprese několika genů oxidoredukční ochrany a nadměrné produkci ROS, což vede k chronickému oxidativnímu stresu a poškození neuronů, a už toto vede k posílení rané patogeneze AD (Wang et al., 2014). Existuje také výsledek studie, ukazující, že genetická delece *Bmal1* vede k urychlení formování A β plaků v mozku a podporuje ukládání amyloidních fibrilárních plaků v periferních tkáních (Kress et al., 2018).

Patogeneze spojená s už uvedeným tau-proteinem také vykazuje cirkadiánní oscilaci, když fosforylace a ukládání tohoto proteinu je řízena cyklem spánku a bdění (Guisle et al., 2020). Je také spojen s poruchami rytmicity *Per2* a *Bmal1*, a navíc hypotéza o roli *Bmal1* v rozvoji AD byla potvrzená výsledkem studie, která demonstruje, že metylace DNA spojená s transkripcí *Bmal1* vykazuje rytmicitu, která se narušuje už při raném rozvoji AD (Cronin et al., 2017) (Li et al., 2017).

5.2. Parkinsonova choroba

U pacientů s PD převažuje jiný mechanismus – ztráta neuronů v substantia nigra, což vede k deficitu dopaminu ve striatu a to i v průběhu dopaminergní terapie (Poewe et al., 2017). Podle současných představ klíčovou roli v rozvoji neurodegenerativního procesu při PD má protein α Syn. V běžných podmínkách se α Syn obvykle vyskytuje v buňce jako tetramer a pravděpodobně se podílí na procesech vezikulárního transportu a regulaci dopaminergní transmise (Lee et al., 2001). Klíčovým krokem molekulárního mechanismu patogeneze Parkinsonovy choroby je změna původní prostorové struktury α Syn s tvorbou komplexnějších β -struktur a neurotoxických oligomerů, jejich následná fibrilace a tvorba rostoucích cytoplazmatických agregátů. (Breydo et al., 2012). Právě α Syn je hlavní složkou Lewyho tělísek – klasických morfologických markerů PD. Navíc, patologická forma α Syn může v buňce fungovat jako matrice, na které probíhá replikace abnormálních molekul při interakci s okolními normálními molekulami α Syn (Hirsch et al., 2013). Následně dochází k postupnému růstu neurálních proteinových agregátů, od malých oligomerů a protofibril k masivním strukturovaným Lewyho tělískům, které rekrutují do svého složení velké množství dalších buněčných proteinů (Breydo et al., 2012). Vykazuje to podobnost s prionovými nemocemi, a to je zdůrazněno amyloidní povahou agregátů α Syn, které se formují v cytoplazmě neuronů (Saiki et al., 2012). Bylo ukázáno, že α Syn může být sekretován a zachycen různými typy buněk CNS pomocí řady autonomních molekulárních mechanismů (Emmanouilidou et al., 2010), a patologické formy proteinu byly identifikovány v CSF pacientů s PD (Tokuda et al., 2010). To zase potvrzuje důležitou roli glymfatického clearance metabolitů z mozku, včetně amyloidů, což nese minimálně neuroprotektivní efekt (Lee & Pienaar, 2014).

V důsledku probíhajících neurodegenerativních procesů je pozorováno také narušení funkcí BBB, a jak již bylo uvedeno, často jsou úrovně exprese proteinů, které následně vytvářejí amyloidní agregáty a metastabilní fibrily, podřízeny cirkadiánním rytmům (Sweeney et al., 2018). Stejně tak proteosomální aktivita následuje cirkadiánní regulaci, jejíž selhání vede k poruchám v ubikvitinaci a dalšímu hromadění amyloidních plaků (Musiek & Holtzman, 2016).

Kromě toho byly prokázány změny v integritě BBB spojené s progresí PD (Paul & Elabi, 2022) (Al-Bachari et al., 2020). U pacientů s PD bylo také pozorováno snížení amplitudy rytmu odpočinku/aktivity spojené s cirkadiánními cykly spánku a bdění, a také snížení jak denní aktivity,

tak nočního odpočinku (Piccini et al., 1991) (Placidi et al., 2008). Cirkadiánně orientovaná terapie, zejména terapie světlem, je účinná při léčbě pacientů s PD, u kterých působí pozitivně na náladu, spánek a motorické funkce (Rutten et al., 2012). Studie také ukázaly prospěch terapie světlem u starších lidí (Tuunainen et al., 2004). Terapie světlem obnovuje cirkadiánní rytmicitu spánku u pacientů s PD, AD a demencí (Riemersma-van der Lek et al., 2008). To je v souladu s údaji, že dobrý spánek u více než 40 % pacientů s PD zlepšuje dopaminergní funkci v důsledku nárůstu dopaminu v nigrostriatálních axonálních terminálech (Tandberg et al., 1999).

Cirkadiánní regulace také ovlivňuje patogenezi PD přes různé mechanismy. Jedním z klíčových faktorů v regulaci dopaminergního přenosu v odměnovém systému mozku je gen *Clock*, ale tato vazba je obousměrná (McClung et al., 2005) (Videnovic & Golombek, 2017). Jak dopaminergní aktivita může vykazovat cirkadiánní rytmicitu, tak i naopak může regulovat cirkadiánní mechanismy přes gen *Clock* v jejich receptor-závislé vazbě (Imbesi et al., 2009). To může také potvrzovat hypotézu, že cirkadiánní poruchy u pacientů s PD spojeny s deregulací dopaminergního systému (Yujnovsky et al., 2006).

Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo shrnout současné znalosti o vztazích mezi nedávno objeveným glymfatickým systémem, jeho významem pro udržení zdraví mozku a regulací, kterému je podřízen. Vzhledem k nedávnému objevu a aktuálnosti tématu existuje obrovské množství nesouvislých, a ještě nepotvrzených informací, proto jsem se snažil zaměřit pouze na ty, které jsou nyní nejvíce ověřené fakty. Z tohoto důvodu jsem se zaměřil pouze na analýzu dvou neurodegenerativních onemocnění, i když existuje mnoho hypotéz o vlivu glymfatického systému na mnohem širší spektrum neuropsychických a neurodegenerativních onemocnění. Nyní bych chtěl shrnout informace prezentované v této práci. Zaprvé, byla analyzována anatomická struktura glymfatického systému, která, ačkoli stále vyvolává spory kvůli problémům s nedostatkem neinvazivních výzkumných metod, se jeví přesvědčivou a je podporována většinou vědecké komunity. Za druhé, byla ukázána obrovská role akvaporinů ve funkcionalitě a činnosti glymfatického systému. Kromě toho, že AQP4 na astrocytárních zakončeních regulují transport tekutin v mozku čistě mechanicky, byla prokázána jejich cirkadiánní regulace. Následně byli probrány mechanismy cirkadiánní regulace BBB. A co se týká celého glymfatického systému - různé jeho struktury a části jsou podřízeny cirkadiánní rytmitiče a regulaci, ale stále neexistuje úplný obraz toho, jak k tomu dochází. Například stále zůstávají neznámé přesné mechanismy potlačování glymfatické aktivity v mozku v bdělém stavu. Přesto je jisté, že celková glymfatická aktivita demonstruje rytmicitu v závislosti na cyklu spánek-bdění a při vystavení stálému světlu, což potvrzuje existenci endogenních regulátorů. Proto jsem se ve své práci snažil ukázat, že

existuje obrovské množství již známých cirkadiánních mechanismů, které mohou regulovat činnost glymfatického systému, ale zároveň zůstává mnoho neznámých. Pochopení toho, jak tyto rytmy vzájemně interagují a regulují drenáž tekutin v glymfatickém systému, by mělo v budoucnu přispět k vytvoření nových terapeutických metod pro neurodegenerativní onemocnění a k pochopení, jak lze tyto znalosti využít k prevenci a předcházení jejich vzniku.

A pravděpodobně již banální rady o tom, že je třeba dodržovat zdravou spánkovou hygienu (což je více a více obtížné v moderním světě) a celkově vést zdravější životní styl, získají nový význam. Vše naznačuje, že kromě všech ostatních výhod takto pečujeme o zdraví našeho mozku.

Seznam použité literatury

- Abbott, N. J. (2004). Evidence for bulk flow of brain interstitial fluid: significance for physiology and pathology. *Neurochem Int*, 45(4), 545-552. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2003.11.006>
- Abbott, N. J., Ronnback, L., & Hansson, E. (2006). Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nat Rev Neurosci*, 7(1), 41-53. <https://doi.org/10.1038/nrn1824>
- Acharyar, T. M., Li, B., Peng, W., Verghese, P. B., Shi, Y., McConnell, E., Benraiss, A., Kasper, T., Song, W., Takano, T., Holtzman, D. M., Nedergaard, M., & Deane, R. (2016). Glymphatic distribution of CSF-derived apoE into brain is isoform specific and suppressed during sleep deprivation. *Mol Neurodegener*, 11(1), 74. <https://doi.org/10.1186/s13024-016-0138-8>
- Al-Bachari, S., Naish, J. H., Parker, G. J. M., Emsley, H. C. A., & Parkes, L. M. (2020). Blood-Brain Barrier Leakage Is Increased in Parkinson's Disease. *Front Physiol*, 11, 593026. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.593026>
- Aoki, R., Shimoda, M., Oda, S., Imai, M., Shigematsu, H., & Matsumae, M. (2019). Clinical Significance of the CSF Pulsation Flow Sign in the Foramen of Monro on FLAIR in Patients with Aneurysmal SAH -Preliminary Report. *Neurol Med Chir (Tokyo)*, 59(7), 271-280. <https://doi.org/10.2176/nmc.oa.2018-0294>
- Armulik, A., Genove, G., Mae, M., Nisancioglu, M. H., Wallgard, E., Niaudet, C., He, L., Norlin, J., Lindblom, P., Strittmatter, K., Johansson, B. R., & Betsholtz, C. (2010). Pericytes regulate the blood-brain barrier. *Nature*, 468(7323), 557-561. <https://doi.org/10.1038/nature09522>
- Atwal, J. K., Chen, Y., Chiu, C., Mortensen, D. L., Meilandt, W. J., Liu, Y., Heise, C. E., Hoyte, K., Luk, W., Lu, Y., Peng, K., Wu, P., Rouge, L., Zhang, Y., Lazarus, R. A., Scarce-Levie, K., Wang, W., Wu, Y., Tessier-Lavigne, M., & Watts, R. J. (2011). A therapeutic antibody targeting BACE1 inhibits amyloid-beta production in vivo. *Sci Transl Med*, 3(84), 84ra43. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3002254>
- Brancaccio, M., Edwards, M. D., Patton, A. P., Smyllie, N. J., Chesham, J. E., Maywood, E. S., & Hastings, M. H. (2019). Cell-autonomous clock of astrocytes drives circadian behavior in mammals. *Science*, 363(6423), 187-192. <https://doi.org/10.1126/science.aat4104>
- Brancaccio, M., Patton, A. P., Chesham, J. E., Maywood, E. S., & Hastings, M. H. (2017). Astrocytes Control Circadian Timekeeping in the Suprachiasmatic Nucleus via Glutamatergic Signaling. *Neuron*, 93(6), 1420-1435 e1425. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.02.030>
- Breydo, L., Wu, J. W., & Uversky, V. N. (2012). Alpha-synuclein misfolding and Parkinson's disease. *Biochim Biophys Acta*, 1822(2), 261-285. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2011.10.002>

- Brightman, M. W., & Reese, T. S. (1969). Junctions between intimately apposed cell membranes in the vertebrate brain. *J Cell Biol*, 40(3), 648-677. <https://doi.org/10.1083/jcb.40.3.648>
- Bubenik, G. A., & Konturek, S. J. (2011). Melatonin and aging: prospects for human treatment. *J Physiol Pharmacol*, 62(1), 13-19. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21451205>
- Burfeind, K. G., Murchison, C. F., Westaway, S. K., Simon, M. J., Erten-Lyons, D., Kaye, J. A., Quinn, J. F., & Iliff, J. J. (2017). The effects of noncoding aquaporin-4 single-nucleotide polymorphisms on cognition and functional progression of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement (N Y)*, 3(3), 348-359. <https://doi.org/10.1016/j.trci.2017.05.001>
- Cai, Z., Qiao, P. F., Wan, C. Q., Cai, M., Zhou, N. K., & Li, Q. (2018). Role of Blood-Brain Barrier in Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*, 63(4), 1223-1234. <https://doi.org/10.3233/JAD-180098>
- Carver, K. A., Lourim, D., Tryba, A. K., & Harder, D. R. (2014). Rhythmic expression of cytochrome P450 epoxigenases CYP4x1 and CYP2c11 in the rat brain and vasculature. *Am J Physiol Cell Physiol*, 307(11), C989-998. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00401.2013>
- Cedernaes, J., Osorio, R. S., Varga, A. W., Kam, K., Schioth, H. B., & Benedict, C. (2017). Candidate mechanisms underlying the association between sleep-wake disruptions and Alzheimer's disease. *Sleep Med Rev*, 31, 102-111. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2016.02.002>
- Cipolla-Neto, J., Amaral, F. G., Afeche, S. C., Tan, D. X., & Reiter, R. J. (2014). Melatonin, energy metabolism, and obesity: a review. *J Pineal Res*, 56(4), 371-381. <https://doi.org/10.1111/jpi.12137>
- Cirrito, J. R., Deane, R., Fagan, A. M., Spinner, M. L., Parsadanian, M., Finn, M. B., Jiang, H., Prior, J. L., Sagare, A., Bales, K. R., Paul, S. M., Zlokovic, B. V., Piwnicka-Worms, D., & Holtzman, D. M. (2005). P-glycoprotein deficiency at the blood-brain barrier increases amyloid-beta deposition in an Alzheimer disease mouse model. *J Clin Invest*, 115(11), 3285-3290. <https://doi.org/10.1172/JCI25247>
- Cronin, P., McCarthy, M. J., Lim, A. S. P., Salmon, D. P., Galasko, D., Masliah, E., De Jager, P. L., Bennett, D. A., & Desplats, P. (2017). Circadian alterations during early stages of Alzheimer's disease are associated with aberrant cycles of DNA methylation in BMAL1. *Alzheimers Dement*, 13(6), 689-700. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.10.003>
- Cuddapah, V. A., Zhang, S. L., & Sehgal, A. (2019). Regulation of the Blood-Brain Barrier by Circadian Rhythms and Sleep. *Trends Neurosci*, 42(7), 500-510. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2019.05.001>
- Da Mesquita, S., Louveau, A., Vaccari, A., Smirnov, I., Cornelison, R. C., Kingsmore, K. M., Contarino, C., Onengut-Gumuscu, S., Farber, E., Raper, D., Viar, K. E., Powell, R. D., Baker, W., Dabhi, N., Bai, R., Cao, R., Hu, S., Rich, S. S., Munson, J. M., . . . Kipnis, J. (2018). Functional aspects of meningeal lymphatics in ageing and Alzheimer's disease. *Nature*, 560(7717), 185-191. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0368-8>

- Damkier, H. H., Brown, P. D., & Praetorius, J. (2013). Cerebrospinal fluid secretion by the choroid plexus. *Physiol Rev*, 93(4), 1847-1892. <https://doi.org/10.1152/physrev.00004.2013>
- Dibner, C., Schibler, U., & Albrecht, U. (2010). The mammalian circadian timing system: organization and coordination of central and peripheral clocks. *Annu Rev Physiol*, 72, 517-549. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021909-135821>
- DiTacchio, L., Le, H. D., Vollmers, C., Hatori, M., Witcher, M., Secombe, J., & Panda, S. (2011). Histone lysine demethylase JARID1a activates CLOCK-BMAL1 and influences the circadian clock. *Science*, 333(6051), 1881-1885. <https://doi.org/10.1126/science.1206022>
- Duong, H. A., Robles, M. S., Knutti, D., & Weitz, C. J. (2011). A molecular mechanism for circadian clock negative feedback. *Science*, 332(6036), 1436-1439. <https://doi.org/10.1126/science.1196766>
- Emmanouilidou, E., Melachroinou, K., Roumeliotis, T., Garbis, S. D., Ntzouni, M., Margaritis, L. H., Stefanis, L., & Vekrellis, K. (2010). Cell-produced alpha-synuclein is secreted in a calcium-dependent manner by exosomes and impacts neuronal survival. *J Neurosci*, 30(20), 6838-6851. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5699-09.2010>
- Feeney, K. A., Hansen, L. L., Putker, M., Olivares-Yanez, C., Day, J., Eades, L. J., Larrondo, L. F., Hoyle, N. P., O'Neill, J. S., & van Ooijen, G. (2016). Daily magnesium fluxes regulate cellular timekeeping and energy balance. *Nature*, 532(7599), 375-379. <https://doi.org/10.1038/nature17407>
- Fenstermacher, J., Gross, P., Sposito, N., Acuff, V., Pettersen, S., & Gruber, K. (1988). Structural and functional variations in capillary systems within the brain. *Ann N Y Acad Sci*, 529, 21-30. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1988.tb51416.x>
- Fifel, K. (2017). Alterations of the circadian system in Parkinson's disease patients. *Mov Disord*, 32(5), 682-692. <https://doi.org/10.1002/mds.26865>
- Fronczek, R., van Geest, S., Frolich, M., Overeem, S., Roelandse, F. W., Lammers, G. J., & Swaab, D. F. (2012). Hypocretin (orexin) loss in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 33(8), 1642-1650. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2011.03.014>
- Furuse, M., Fujita, K., Hiiragi, T., Fujimoto, K., & Tsukita, S. (1998). Claudin-1 and -2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin. *J Cell Biol*, 141(7), 1539-1550. <https://doi.org/10.1083/jcb.141.7.1539>
- Furuse, M., Hirase, T., Itoh, M., Nagafuchi, A., Yonemura, S., Tsukita, S., & Tsukita, S. (1993). Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions. *J Cell Biol*, 123(6 Pt 2), 1777-1788. <https://doi.org/10.1083/jcb.123.6.1777>
- Giasson, B. I., Duda, J. E., Quinn, S. M., Zhang, B., Trojanowski, J. Q., & Lee, V. M. (2002). Neuronal alpha-synucleinopathy with severe movement disorder in mice expressing A53T human alpha-synuclein. *Neuron*, 34(4), 521-533. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(02\)00682-7](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(02)00682-7)

- Giovannoni, F., & Quintana, F. J. (2020). The Role of Astrocytes in CNS Inflammation. *Trends Immunol*, 41(9), 805-819. <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.07.007>
- Gnocchi, D., & Bruscalupi, G. (2017). Circadian Rhythms and Hormonal Homeostasis: Pathophysiological Implications. *Biology (Basel)*, 6(1). <https://doi.org/10.3390/biology6010010>
- Gordleeva, S., Kanakov, O., Ivanchenko, M., Zaikin, A., & Franceschi, C. (2020). Brain aging and garbage cleaning : Modelling the role of sleep, glymphatic system, and microglia senescence in the propagation of inflammaging. *Semin Immunopathol*, 42(5), 647-665. <https://doi.org/10.1007/s00281-020-00816-x>
- Guisle, I., Gratuze, M., Petry, S., Morin, F., Keraudren, R., Whittington, R. A., Hebert, S. S., Mongrain, V., & Planel, E. (2020). Circadian and sleep/wake-dependent variations in tau phosphorylation are driven by temperature. *Sleep*, 43(4). <https://doi.org/10.1093/sleep/zsz266>
- Hablitz, L. M., & Nedergaard, M. (2021). The Glymphatic System: A Novel Component of Fundamental Neurobiology. *J Neurosci*, 41(37), 7698-7711. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0619-21.2021>
- Hablitz, L. M., Pla, V., Giannetto, M., Vinitzky, H. S., Staeger, F. F., Metcalfe, T., Nguyen, R., Benrais, A., & Nedergaard, M. (2020). Circadian control of brain glymphatic and lymphatic fluid flow. *Nat Commun*, 11(1), 4411. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18115-2>
- Hariharan, A., Robertson, C. D., Garcia, D. C. G., & Longden, T. A. (2022). Brain capillary pericytes are metabolic sentinels that control blood flow through a K(ATP) channel-dependent energy switch. *Cell Rep*, 41(13), 111872. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111872>
- Hashimoto, Y., Campbell, M., Tachibana, K., Okada, Y., & Kondoh, M. (2021). Claudin-5: A Pharmacological Target to Modify the Permeability of the Blood-Brain Barrier. *Biol Pharm Bull*, 44(10), 1380-1390. <https://doi.org/10.1248/bpb.b21-00408>
- Heithoff, B. P., George, K. K., Phares, A. N., Zuidhoek, I. A., Munoz-Ballester, C., & Robel, S. (2021). Astrocytes are necessary for blood-brain barrier maintenance in the adult mouse brain. *Glia*, 69(2), 436-472. <https://doi.org/10.1002/glia.23908>
- Hirsch, E. C., Jenner, P., & Przedborski, S. (2013). Pathogenesis of Parkinson's disease. *Mov Disord*, 28(1), 24-30. <https://doi.org/10.1002/mds.25032>
- Ho, K. C., Roessmann, U., Straumfjord, J. V., & Monroe, G. (1980). Analysis of brain weight. I. Adult brain weight in relation to sex, race, and age. *Arch Pathol Lab Med*, 104(12), 635-639. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6893659>
- Holth, J. K., Fritschi, S. K., Wang, C., Pedersen, N. P., Cirrito, J. R., Mahan, T. E., Finn, M. B., Manis, M., Geerling, J. C., Fuller, P. M., Lucey, B. P., & Holtzman, D. M. (2019). The

- sleep-wake cycle regulates brain interstitial fluid tau in mice and CSF tau in humans. *Science*, 363(6429), 880-884. <https://doi.org/10.1126/science.aav2546>
- Hoogerwerf, W. A. (2006). Biologic clocks and the gut. *Curr Gastroenterol Rep*, 8(5), 353-359. <https://doi.org/10.1007/s11894-006-0019-3>
- Hoshi, A., Yamamoto, T., Kikuchi, S., Soeda, T., Shimizu, K., & Ugawa, Y. (2012). Aquaporin-4 expression in distal myopathy with rimmed vacuoles. *BMC Neurol*, 12, 22. <https://doi.org/10.1186/1471-2377-12-22>
- Hudson, N., Celkova, L., Hopkins, A., Greene, C., Storti, F., Ozaki, E., Fahey, E., Theodoropoulou, S., Kenna, P. F., Humphries, M. M., Curtis, A. M., Demmons, E., Browne, A., Liddie, S., Lawrence, M. S., Grimm, C., Cahill, M. T., Humphries, P., Doyle, S. L., & Campbell, M. (2019). Dysregulated claudin-5 cycling in the inner retina causes retinal pigment epithelial cell atrophy. *JCI Insight*, 4(15). <https://doi.org/10.1172/jci.insight.130273>
- Hutton, D., Fadelalla, M. G., Kanodia, A. K., & Hossain-Ibrahim, K. (2022). Choroid plexus and CSF: an updated review. *Br J Neurosurg*, 36(3), 307-315. <https://doi.org/10.1080/02688697.2021.1903390>
- Chuang, E., Hori, A. M., Hesketh, C. D., & Shorter, J. (2018). Amyloid assembly and disassembly. *J Cell Sci*, 131(8). <https://doi.org/10.1242/jcs.189928>
- Illiff, J. J., Wang, M., Liao, Y., Plogg, B. A., Peng, W., Gundersen, G. A., Benveniste, H., Vates, G. E., Deane, R., Goldman, S. A., Nagelhus, E. A., & Nedergaard, M. (2012). A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid beta. *Sci Transl Med*, 4(147), 147ra111. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003748>
- Imbesi, M., Yildiz, S., Dirim Arslan, A., Sharma, R., Manev, H., & Uz, T. (2009). Dopamine receptor-mediated regulation of neuronal "clock" gene expression. *Neuroscience*, 158(2), 537-544. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.10.044>
- Inouye, S. T., & Kawamura, H. (1979). Persistence of circadian rhythmicity in a mammalian hypothalamic "island" containing the suprachiasmatic nucleus. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 76(11), 5962-5966. <https://doi.org/10.1073/pnas.76.11.5962>
- Jessen, N. A., Munk, A. S., Lundgaard, I., & Nedergaard, M. (2015). The Glymphatic System: A Beginner's Guide. *Neurochem Res*, 40(12), 2583-2599. <https://doi.org/10.1007/s11064-015-1581-6>
- Jin, X., Shearman, L. P., Weaver, D. R., Zylka, M. J., de Vries, G. J., & Reppert, S. M. (1999). A molecular mechanism regulating rhythmic output from the suprachiasmatic circadian clock. *Cell*, 96(1), 57-68. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80959-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80959-9)
- Ju, Y. S., Ooms, S. J., Sutphen, C., Macauley, S. L., Zangrilli, M. A., Jerome, G., Fagan, A. M., Mignot, E., Zempel, J. M., Claassen, J., & Holtzman, D. M. (2017). Slow wave sleep

- disruption increases cerebrospinal fluid amyloid-beta levels. *Brain*, 140(8), 2104-2111. <https://doi.org/10.1093/brain/awx148>
- Kamagata, K., Andica, C., Takabayashi, K., Saito, Y., Taoka, T., Nozaki, H., Kikuta, J., Fujita, S., Hagiwara, A., Kamiya, K., Wada, A., Akashi, T., Sano, K., Nishizawa, M., Hori, M., Naganawa, S., Aoki, S., & Alzheimer's Disease Neuroimaging, I. (2022). Association of MRI Indices of Glymphatic System With Amyloid Deposition and Cognition in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer Disease. *Neurology*, 99(24), e2648-e2660. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000201300>
- Kang, D. W., Lee, C. U., & Lim, H. K. (2017). Role of Sleep Disturbance in the Trajectory of Alzheimer's Disease. *Clin Psychopharmacol Neurosci*, 15(2), 89-99. <https://doi.org/10.9758/cpn.2017.15.2.89>
- Kaplan, L., Chow, B. W., & Gu, C. (2020). Neuronal regulation of the blood-brain barrier and neurovascular coupling. *Nat Rev Neurosci*, 21(8), 416-432. <https://doi.org/10.1038/s41583-020-0322-2>
- Kheirandish-Gozal, L., Philby, M. F., Alonso-Alvarez, M. L., Teran-Santos, J., & Gozal, D. (2016). Biomarkers of Alzheimer Disease in Children with Obstructive Sleep Apnea: Effect of Adenotonsillectomy. *Sleep*, 39(6), 1225-1232. <https://doi.org/10.5665/sleep.5838>
- Kim, S. J., Lee, J. H., Lee, D. Y., Jhoo, J. H., & Woo, J. I. (2011). Neurocognitive dysfunction associated with sleep quality and sleep apnea in patients with mild cognitive impairment. *Am J Geriatr Psychiatry*, 19(4), 374-381. <https://doi.org/10.1097/JGP.0b013e3181e9b976>
- Kress, G. J., Liao, F., Dimitry, J., Cedeno, M. R., FitzGerald, G. A., Holtzman, D. M., & Musiek, E. S. (2018). Regulation of amyloid-beta dynamics and pathology by the circadian clock. *J Exp Med*, 215(4), 1059-1068. <https://doi.org/10.1084/jem.20172347>
- Kyoko, O. O., Kono, H., Ishimaru, K., Miyake, K., Kubota, T., Ogawa, H., Okumura, K., Shibata, S., & Nakao, A. (2014). Expressions of tight junction proteins Occludin and Claudin-1 are under the circadian control in the mouse large intestine: implications in intestinal permeability and susceptibility to colitis. *PLoS One*, 9(5), e98016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098016>
- Lananna, B. V., Nadarajah, C. J., Izumo, M., Cedeno, M. R., Xiong, D. D., Dimitry, J., Tso, C. F., McKee, C. A., Griffin, P., Sheehan, P. W., Haspel, J. A., Barres, B. A., Liddelov, S. A., Takahashi, J. S., Karatsoreos, I. N., & Musiek, E. S. (2018). Cell-Autonomous Regulation of Astrocyte Activation by the Circadian Clock Protein BMAL1. *Cell Rep*, 25(1), 1-9 e5. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.09.015>
- Langen, U. H., Ayloo, S., & Gu, C. (2019). Development and Cell Biology of the Blood-Brain Barrier. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 35, 591-613. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100617-062608>

- Lee, F. J., Liu, F., Pristupa, Z. B., & Niznik, H. B. (2001). Direct binding and functional coupling of alpha-synuclein to the dopamine transporters accelerate dopamine-induced apoptosis. *FASEB J*, 15(6), 916-926. <https://doi.org/10.1096/fj.00-0334com>
- Lee, H., & Pienaar, I. S. (2014). Disruption of the blood-brain barrier in Parkinson's disease: curse or route to a cure? *Front Biosci (Landmark Ed)*, 19(2), 272-280. <https://doi.org/10.2741/4206>
- Lee, H., Xie, L., Yu, M., Kang, H., Feng, T., Deane, R., Logan, J., Nedergaard, M., & Benveniste, H. (2015). The Effect of Body Posture on Brain Glymphatic Transport. *J Neurosci*, 35(31), 11034-11044. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1625-15.2015>
- Lee, M. A., Prentice, W. M., Hildreth, A. J., & Walker, R. W. (2007). Measuring symptom load in Idiopathic Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*, 13(5), 284-289. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2006.11.009>
- Li, S., Wang, Y., Wang, F., Hu, L. F., & Liu, C. F. (2017). A New Perspective for Parkinson's Disease: Circadian Rhythm. *Neurosci Bull*, 33(1), 62-72. <https://doi.org/10.1007/s12264-016-0089-7>
- Louveau, A., Herz, J., Alme, M. N., Salvador, A. F., Dong, M. Q., Viar, K. E., Herod, S. G., Knopp, J., Setliff, J. C., Lupi, A. L., Da Mesquita, S., Frost, E. L., Gaultier, A., Harris, T. H., Cao, R., Hu, S., Lukens, J. R., Smirnov, I., Overall, C. C., . . . Kipnis, J. (2018). CNS lymphatic drainage and neuroinflammation are regulated by meningeal lymphatic vasculature. *Nat Neurosci*, 21(10), 1380-1391. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0227-9>
- Lowrey, P. L., & Takahashi, J. S. (2004). Mammalian circadian biology: elucidating genome-wide levels of temporal organization. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 5, 407-441. <https://doi.org/10.1146/annurev.genom.5.061903.175925>
- Lucey, B. P., & Bateman, R. J. (2014). Amyloid-beta diurnal pattern: possible role of sleep in Alzheimer's disease pathogenesis. *Neurobiol Aging*, 35 Suppl 2, S29-34. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.03.035>
- Lundgaard, I., Lu, M. L., Yang, E., Peng, W., Mestre, H., Hitomi, E., Deane, R., & Nedergaard, M. (2017). Glymphatic clearance controls state-dependent changes in brain lactate concentration. *J Cereb Blood Flow Metab*, 37(6), 2112-2124. <https://doi.org/10.1177/0271678X16661202>
- Madaeva I., S. N., Ukhinov E. (2019). Plasma amiloid β 42 in patients with obstructive sleep apnea before and after PAP-therapy: pilot study. *Int. J. Biomed*(9), 205–209. [https://doi.org/10.21103/Article9\(3\)_OA3](https://doi.org/10.21103/Article9(3)_OA3)
- Mae, M. A., He, L., Nordling, S., Vazquez-Liebanas, E., Nahar, K., Jung, B., Li, X., Tan, B. C., Chin Foo, J., Cazenave-Gassiot, A., Wenk, M. R., Zarb, Y., Lavina, B., Quaggin, S. E., Jeansson, M., Gu, C., Silver, D. L., Vanlandewijck, M., Butcher, E. C., . . . Betsholtz, C.

- (2021). Single-Cell Analysis of Blood-Brain Barrier Response to Pericyte Loss. *Circ Res*, 128(4), e46-e62. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.120.317473>
- Mander, B. A., Marks, S. M., Vogel, J. W., Rao, V., Lu, B., Saletin, J. M., Ancoli-Israel, S., Jagust, W. J., & Walker, M. P. (2015). beta-amyloid disrupts human NREM slow waves and related hippocampus-dependent memory consolidation. *Nat Neurosci*, 18(7), 1051-1057. <https://doi.org/10.1038/nn.4035>
- Marin-Moreno, A., Canoyra, S., Fernandez-Borges, N., Espinosa, J. C., & Torres, J. M. (2023). Transgenic Mouse Models for the Study of Neurodegenerative Diseases. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 28(1), 21. <https://doi.org/10.31083/j.fb12801021>
- Martin-Padura, I., Lostaglio, S., Schneemann, M., Williams, L., Romano, M., Fruscella, P., Panzeri, C., Stoppacciaro, A., Ruco, L., Villa, A., Simmons, D., & Dejana, E. (1998). Junctional adhesion molecule, a novel member of the immunoglobulin superfamily that distributes at intercellular junctions and modulates monocyte transmigration. *J Cell Biol*, 142(1), 117-127. <https://doi.org/10.1083/jcb.142.1.117>
- Matsuzaki, T., Tajika, Y., Ablimit, A., Aoki, T., Hagiwara, H., & Takata, K. (2004). Aquaporins in the digestive system. *Med Electron Microsc*, 37(2), 71-80. <https://doi.org/10.1007/s00795-004-0246-3>
- Maywood, E. S., O'Brien, J. A., & Hastings, M. H. (2003). Expression of mCLOCK and other circadian clock-relevant proteins in the mouse suprachiasmatic nuclei. *J Neuroendocrinol*, 15(4), 329-334. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2826.2003.00971.x>
- McClung, C. A., Sidiropoulou, K., Vitaterna, M., Takahashi, J. S., White, F. J., Cooper, D. C., & Nestler, E. J. (2005). Regulation of dopaminergic transmission and cocaine reward by the Clock gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102(26), 9377-9381. <https://doi.org/10.1073/pnas.0503584102>
- McKee, C. A., Polino, A. J., King, M. W., & Musiek, E. S. (2023). Circadian clock protein BMAL1 broadly influences autophagy and endolysosomal function in astrocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 120(20), e2220551120. <https://doi.org/10.1073/pnas.2220551120>
- Mestre, H., Hablitz, L. M., Xavier, A. L., Feng, W., Zou, W., Pu, T., Monai, H., Murlidharan, G., Castellanos Rivera, R. M., Simon, M. J., Pike, M. M., Pla, V., Du, T., Kress, B. T., Wang, X., Plog, B. A., Thrane, A. S., Lundgaard, I., Abe, Y., . . . Nedergaard, M. (2018). Aquaporin-4-dependent glymphatic solute transport in the rodent brain. *Elife*, 7. <https://doi.org/10.7554/eLife.40070>
- Mestre, H., Tithof, J., Du, T., Song, W., Peng, W., Sweeney, A. M., Olveda, G., Thomas, J. H., Nedergaard, M., & Kelley, D. H. (2018). Flow of cerebrospinal fluid is driven by arterial pulsations and is reduced in hypertension. *Nat Commun*, 9(1), 4878. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07318-3>
- Milhorat, T. H. (1975). The third circulation revisited. *J Neurosurg*, 42(6), 628-645. <https://doi.org/10.3171/jns.1975.42.6.0628>

- Moore, R. Y., & Lenn, N. J. (1972). A retinohypothalamic projection in the rat. *J Comp Neurol*, 146(1), 1-14. <https://doi.org/10.1002/cne.901460102>
- Mukherji, A., Kobiita, A., Ye, T., & Chambon, P. (2013). Homeostasis in intestinal epithelium is orchestrated by the circadian clock and microbiota cues transduced by TLRs. *Cell*, 153(4), 812-827. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.04.020>
- Musiek, E. S., & Holtzman, D. M. (2016). Mechanisms linking circadian clocks, sleep, and neurodegeneration. *Science*, 354(6315), 1004-1008. <https://doi.org/10.1126/science.aah4968>
- Nagelhus, E. A., & Ottersen, O. P. (2013). Physiological roles of aquaporin-4 in brain. *Physiol Rev*, 93(4), 1543-1562. <https://doi.org/10.1152/physrev.00011.2013>
- Nakada, T., Kwee, I. L., Igarashi, H., & Suzuki, Y. (2017). Aquaporin-4 Functionality and Virchow-Robin Space Water Dynamics: Physiological Model for Neurovascular Coupling and Glymphatic Flow. *Int J Mol Sci*, 18(8). <https://doi.org/10.3390/ijms18081798>
- Nakahata, Y., Kaluzova, M., Grimaldi, B., Sahar, S., Hirayama, J., Chen, D., Guarente, L. P., & Sassone-Corsi, P. (2008). The NAD⁺-dependent deacetylase SIRT1 modulates CLOCK-mediated chromatin remodeling and circadian control. *Cell*, 134(2), 329-340. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.07.002>
- Nakazato, R., Kawabe, K., Yamada, D., Ikeno, S., Mieda, M., Shimba, S., Hinoi, E., Yoneda, Y., & Takarada, T. (2017). Disruption of Bmal1 Impairs Blood-Brain Barrier Integrity via Pericyte Dysfunction. *J Neurosci*, 37(42), 10052-10062. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3639-16.2017>
- Ng Kee Kwong, K. C., Mehta, A. R., Nedergaard, M., & Chandran, S. (2020). Defining novel functions for cerebrospinal fluid in ALS pathophysiology. *Acta Neuropathol Commun*, 8(1), 140. <https://doi.org/10.1186/s40478-020-01018-0>
- Nilsson, C., Stahlberg, F., Thomsen, C., Henriksen, O., Herning, M., & Owman, C. (1992). Circadian variation in human cerebrospinal fluid production measured by magnetic resonance imaging. *Am J Physiol*, 262(1 Pt 2), R20-24. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1992.262.1.R20>
- Ohtsuki, S., Yamaguchi, H., Katsukura, Y., Asashima, T., & Terasaki, T. (2008). mRNA expression levels of tight junction protein genes in mouse brain capillary endothelial cells highly purified by magnetic cell sorting. *J Neurochem*, 104(1), 147-154. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.05008.x>
- Oldendorf, W. H., Cornford, M. E., & Brown, W. J. (1977). The large apparent work capability of the blood-brain barrier: a study of the mitochondrial content of capillary endothelial cells in brain and other tissues of the rat. *Ann Neurol*, 1(5), 409-417. <https://doi.org/10.1002/ana.410010502>

- Oreskovic, D., & Klarica, M. (2010). The formation of cerebrospinal fluid: nearly a hundred years of interpretations and misinterpretations. *Brain Res Rev*, *64*(2), 241-262. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2010.04.006>
- Osorio, R. S., Gumb, T., Pirraglia, E., Varga, A. W., Lu, S. E., Lim, J., Wohlleber, M. E., Ducca, E. L., Koushyk, V., Glodzik, L., Mosconi, L., Ayappa, I., Rapoport, D. M., de Leon, M. J., & Alzheimer's Disease Neuroimaging, I. (2015). Sleep-disordered breathing advances cognitive decline in the elderly. *Neurology*, *84*(19), 1964-1971. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001566>
- Panda, S., Antoch, M. P., Miller, B. H., Su, A. I., Schook, A. B., Straume, M., Schultz, P. G., Kay, S. A., Takahashi, J. S., & Hogenesch, J. B. (2002). Coordinated transcription of key pathways in the mouse by the circadian clock. *Cell*, *109*(3), 307-320. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(02\)00722-5](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(02)00722-5)
- Patton, A. P., Morris, E. L., McManus, D., Wang, H., Li, Y., Chin, J. W., & Hastings, M. H. (2023). Astrocytic control of extracellular GABA drives circadian timekeeping in the suprachiasmatic nucleus. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *120*(21), e2301330120. <https://doi.org/10.1073/pnas.2301330120>
- Paul, G., & Elabi, O. F. (2022). Microvascular Changes in Parkinson's Disease- Focus on the Neurovascular Unit. *Front Aging Neurosci*, *14*, 853372. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.853372>
- Peppiatt, C. M., Howarth, C., Mobbs, P., & Attwell, D. (2006). Bidirectional control of CNS capillary diameter by pericytes. *Nature*, *443*(7112), 700-704. <https://doi.org/10.1038/nature05193>
- Piccini, P., Del Dotto, P., Pardini, C., D'Antonio, P., Rossi, G., & Bonuccelli, U. (1991). [Diurnal worsening in Parkinson patients treated with levodopa]. *Riv Neurol*, *61*(6), 219-224. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1813974> (Peggioramento diurno in parkinsoniani trattati con levodopa.)
- Pittendrigh, C. S. (1960). Circadian rhythms and the circadian organization of living systems. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, *25*, 159-184. <https://doi.org/10.1101/sqb.1960.025.01.015>
- Placidi, F., Izzi, F., Romigi, A., Stanzione, P., Marciani, M. G., Brusa, L., Sperli, F., Galati, S., Pasqualetti, P., & Pierantozzi, M. (2008). Sleep-wake cycle and effects of cabergoline monotherapy in de novo Parkinson's disease patients. An ambulatory polysomnographic study. *J Neurol*, *255*(7), 1032-1037. <https://doi.org/10.1007/s00415-008-0836-4>
- Poewe, W., Seppi, K., Tanner, C. M., Halliday, G. M., Brundin, P., Volkman, J., Schrag, A. E., & Lang, A. E. (2017). Parkinson disease. *Nat Rev Dis Primers*, *3*, 17013. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.13>
- Preitner, N., Damiola, F., Lopez-Molina, L., 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. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(02\)00825-5](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(02)00825-5)
- Provencio, I., Jiang, G., De Grip, W. J., Hayes, W. P., & Rollag, M. D. (1998). Melanopsin: An opsin in melanophores, brain, and eye. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *95*(1), 340-345. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.1.340>
- Pulido, R. S., Munji, R. N., Chan, T. C., Quirk, C. R., Weiner, G. A., Weger, B. D., Rossi, M. J., Elmsaouri, S., Malfavon, M., Deng, A., Profaci, C. P., Blanchette, M., Qian, T., Foreman, K. L., Shusta, E. V., Gorman, M. R., Gachon, F., Leutgeb, S., & Daneman, R. (2020). Neuronal Activity Regulates Blood-Brain Barrier Efflux Transport through Endothelial Circadian Genes. *Neuron*, *108*(5), 937-952 e937. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.09.002>
- Rainey-Smith, S. R., Mazzucchelli, G. N., Villemagne, V. L., Brown, B. M., Porter, T., Weinborn, M., Bucks, R. S., Milicic, L., Sohrabi, H. R., Taddei, K., Ames, D., Maruff, P., Masters, C. L., Rowe, C. C., Salvado, O., Martins, R. N., Laws, S. M., & Group, A. R. (2018). Genetic variation in Aquaporin-4 moderates the relationship between sleep and brain Abeta-amyloid burden. *Transl Psychiatry*, *8*(1), 47. <https://doi.org/10.1038/s41398-018-0094-x>
- Redzic, Z. B., Preston, J. E., Duncan, J. A., Chodobski, A., & Szmydynger-Chodobska, J. (2005). The choroid plexus-cerebrospinal fluid system: from development to aging. *Curr Top Dev Biol*, *71*, 1-52. [https://doi.org/10.1016/S0070-2153\(05\)71001-2](https://doi.org/10.1016/S0070-2153(05)71001-2)
- Riemersma-van der Lek, R. F., Swaab, D. F., Twisk, J., Hol, E. M., Hoogendijk, W. J., & Van Someren, E. J. (2008). Effect of bright light and melatonin on cognitive and noncognitive function in elderly residents of group care facilities: a randomized controlled trial. *JAMA*, *299*(22), 2642-2655. <https://doi.org/10.1001/jama.299.22.2642>
- Ripperger, J. A., & Meroz, M. (2011). Perfect timing: epigenetic regulation of the circadian clock. *FEBS Lett*, *585*(10), 1406-1411. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2011.04.047>
- Rothman, S. M., Herdener, N., Frankola, K. A., Mughal, M. R., & Mattson, M. P. (2013). Chronic mild sleep restriction accentuates contextual memory impairments, and accumulations of cortical Abeta and pTau in a mouse model of Alzheimer's disease. *Brain Res*, *1529*, 200-208. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2013.07.010>
- Rothman, S. M., & Mattson, M. P. (2012). Sleep disturbances in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Neuromolecular Med*, *14*(3), 194-204. <https://doi.org/10.1007/s12017-012-8181-2>
- Rutten, S., Vriend, C., van den Heuvel, O. A., Smit, J. H., Berendse, H. W., & van der Werf, Y. D. (2012). Bright light therapy in Parkinson's disease: an overview of the background and evidence. *Parkinsons Dis*, *2012*, 767105. <https://doi.org/10.1155/2012/767105>
- Saiki, S., Sato, S., & Hattori, N. (2012). Molecular pathogenesis of Parkinson's disease: update. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, *83*(4), 430-436. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2011-301205>

- Saper, C. B., Scammell, T. E., & Lu, J. (2005). Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. *Nature*, 437(7063), 1257-1263. <https://doi.org/10.1038/nature04284>
- Sato, T. K., Panda, S., Miraglia, L. J., Reyes, T. M., Rudic, R. D., McNamara, P., Naik, K. A., FitzGerald, G. A., Kay, S. A., & Hogenesch, J. B. (2004). A functional genomics strategy reveals Rora as a component of the mammalian circadian clock. *Neuron*, 43(4), 527-537. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.07.018>
- Satoh, J., Tabunoki, H., Yamamura, T., Arima, K., & Konno, H. (2007). Human astrocytes express aquaporin-1 and aquaporin-4 in vitro and in vivo. *Neuropathology*, 27(3), 245-256. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1789.2007.00774.x>
- Sherpa, A. D., Xiao, F., Joseph, N., Aoki, C., & Hrabetova, S. (2016). Activation of beta-adrenergic receptors in rat visual cortex expands astrocytic processes and reduces extracellular space volume. *Synapse*, 70(8), 307-316. <https://doi.org/10.1002/syn.21908>
- Song, H., Moon, M., Choe, H. K., Han, D. H., Jang, C., Kim, A., Cho, S., Kim, K., & Mook-Jung, I. (2015). Abeta-induced degradation of BMAL1 and CBP leads to circadian rhythm disruption in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*, 10, 13. <https://doi.org/10.1186/s13024-015-0007-x>
- Spira, A. P., Gamaldo, A. A., An, Y., Wu, M. N., Simonsick, E. M., Bilgel, M., Zhou, Y., Wong, D. F., Ferrucci, L., & Resnick, S. M. (2013). Self-reported sleep and beta-amyloid deposition in community-dwelling older adults. *JAMA Neurol*, 70(12), 1537-1543. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.4258>
- Stewart, P. A., & Wiley, M. J. (1981). Developing nervous tissue induces formation of blood-brain barrier characteristics in invading endothelial cells: a study using quail--chick transplantation chimeras. *Dev Biol*, 84(1), 183-192. [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(81\)90382-1](https://doi.org/10.1016/0012-1606(81)90382-1)
- Sweeney, M. D., Sagare, A. P., & Zlokovic, B. V. (2018). Blood-brain barrier breakdown in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurol*, 14(3), 133-150. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2017.188>
- Takahashi, J. S., Hong, H. K., Ko, C. H., & McDearmon, E. L. (2008). The genetics of mammalian circadian order and disorder: implications for physiology and disease. *Nat Rev Genet*, 9(10), 764-775. <https://doi.org/10.1038/nrg2430>
- Tandberg, E., Larsen, J. P., & Karlsen, K. (1999). Excessive daytime sleepiness and sleep benefit in Parkinson's disease: a community-based study. *Mov Disord*, 14(6), 922-927. [https://doi.org/10.1002/1531-8257\(199911\)14:6<922::aid-mds1003>3.0.co;2-7](https://doi.org/10.1002/1531-8257(199911)14:6<922::aid-mds1003>3.0.co;2-7)
- Thomas, S. A., Davson, H., & Segal, M. B. (1997). Quantification of efflux into the blood and brain of intraventricularly perfused [3H]thymidine in the anaesthetized rabbit. *Exp Physiol*, 82(1), 139-148. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.1997.sp004003>

- Tithof, J., Boster, K. A. S., Bork, P. A. R., Nedergaard, M., Thomas, J. H., & Kelley, D. H. (2022). A network model of glymphatic flow under different experimentally-motivated parametric scenarios. *iScience*, 25(5), 104258. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104258>
- Tokuda, T., Qureshi, M. M., Ardah, M. T., Varghese, S., Shehab, S. A., Kasai, T., Ishigami, N., Tamaoka, A., Nakagawa, M., & El-Agnaf, O. M. (2010). Detection of elevated levels of alpha-synuclein oligomers in CSF from patients with Parkinson disease. *Neurology*, 75(20), 1766-1772. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181fd613b>
- Tso, C. F., Simon, T., Greenlaw, A. C., Puri, T., Mieda, M., & Herzog, E. D. (2017). Astrocytes Regulate Daily Rhythms in the Suprachiasmatic Nucleus and Behavior. *Curr Biol*, 27(7), 1055-1061. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.02.037>
- Tuunainen, A., Kripke, D. F., & Endo, T. (2004). Light therapy for non-seasonal depression. *Cochrane Database Syst Rev*, 2004(2), CD004050. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004050.pub2>
- Tyler, B., DiMeco, F., Grossman, R., & Pradilla, G. (2014). Current and future novel treatments for glioblastoma multiforme. *Biomed Res Int*, 2014, 432195. <https://doi.org/10.1155/2014/432195>
- Ueda, H. R., Chen, W., Adachi, A., Wakamatsu, H., Hayashi, S., Takasugi, T., Nagano, M., Nakahama, K., Suzuki, Y., Sugano, S., Iino, M., Shigeyoshi, Y., & Hashimoto, S. (2002). A transcription factor response element for gene expression during circadian night. *Nature*, 418(6897), 534-539. <https://doi.org/10.1038/nature00906>
- Urrestarazu, E., & Iriarte, J. (2016). Clinical management of sleep disturbances in Alzheimer's disease: current and emerging strategies. *Nat Sci Sleep*, 8, 21-33. <https://doi.org/10.2147/NSS.S76706>
- Vasciaveo, V., Iadarola, A., Casile, A., Dante, D., Morello, G., Minotta, L., Tamagno, E., Cicolin, A., & Guglielmotto, M. (2023). Sleep fragmentation affects glymphatic system through the different expression of AQP4 in wild type and 5xFAD mouse models. *Acta Neuropathol Commun*, 11(1), 16. <https://doi.org/10.1186/s40478-022-01498-2>
- Venkat, P., Chopp, M., Zacharek, A., Cui, C., Zhang, L., Li, Q., Lu, M., Zhang, T., Liu, A., & Chen, J. (2017). White matter damage and glymphatic dysfunction in a model of vascular dementia in rats with no prior vascular pathologies. *Neurobiol Aging*, 50, 96-106. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2016.11.002>
- Verkman, A. S., & Mitra, A. K. (2000). Structure and function of aquaporin water channels. *Am J Physiol Renal Physiol*, 278(1), F13-28. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.2000.278.1.F13>
- Videnovic, A., & Golombek, D. (2017). Circadian Dysregulation in Parkinson's Disease. *Neurobiol Sleep Circadian Rhythms*, 2, 53-58. <https://doi.org/10.1016/j.nbscr.2016.11.001>
- Wang, F., Wang, W., Gu, S., Qi, D., Smith, N. A., Peng, W., Dong, W., Yuan, J., Zhao, B., Mao, Y., Cao, P., Lu, Q. R., Shapiro, L. A., Yi, S. S., Wu, E., & Huang, J. H. (2023). Distinct

- astrocytic modulatory roles in sensory transmission during sleep, wakefulness, and arousal states in freely moving mice. *Nat Commun*, 14(1), 2186. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-37974-z>
- Wang, X., Wang, W., Li, L., Perry, G., Lee, H. G., & Zhu, X. (2014). Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*, 1842(8), 1240-1247. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.10.015>
- Weksler, B. B., Subileau, E. A., Perriere, N., Charneau, P., Holloway, K., Leveque, M., Tricoire-Leignel, H., Nicotra, A., Bourdoulous, S., Turowski, P., Male, D. K., Roux, F., Greenwood, J., Romero, I. A., & Couraud, P. O. (2005). Blood-brain barrier-specific properties of a human adult brain endothelial cell line. *FASEB J*, 19(13), 1872-1874. <https://doi.org/10.1096/fj.04-3458fje>
- Welsh, D. K., Takahashi, J. S., & Kay, S. A. (2010). Suprachiasmatic nucleus: cell autonomy and network properties. *Annu Rev Physiol*, 72, 551-577. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021909-135919>
- Willis, C. L., Leach, L., Clarke, G. J., Nolan, C. C., & Ray, D. E. (2004). Reversible disruption of tight junction complexes in the rat blood-brain barrier, following transitory focal astrocyte loss. *Glia*, 48(1), 1-13. <https://doi.org/10.1002/glia.20049>
- Xie, L., Kang, H., Xu, Q., Chen, M. J., Liao, Y., Thiyagarajan, M., O'Donnell, J., Christensen, D. J., Nicholson, C., Iliff, J. J., Takano, T., Deane, R., & Nedergaard, M. (2013). Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. *Science*, 342(6156), 373-377. <https://doi.org/10.1126/science.1241224>
- Xu, Z., Xiao, N., Chen, Y., Huang, H., Marshall, C., Gao, J., Cai, Z., Wu, T., Hu, G., & Xiao, M. (2015). Deletion of aquaporin-4 in APP/PS1 mice exacerbates brain Abeta accumulation and memory deficits. *Mol Neurodegener*, 10, 58. <https://doi.org/10.1186/s13024-015-0056-1>
- Yin, L., Wu, N., & Lazar, M. A. (2010). Nuclear receptor Rev-erbalpha: a heme receptor that coordinates circadian rhythm and metabolism. *Nucl Recept Signal*, 8, e001. <https://doi.org/10.1621/nrs.08001>
- Yujnovsky, I., Hirayama, J., Doi, M., Borrelli, E., & Sassone-Corsi, P. (2006). Signaling mediated by the dopamine D2 receptor potentiates circadian regulation by CLOCK:BMAL1. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103(16), 6386-6391. <https://doi.org/10.1073/pnas.0510691103>
- Zeppenfeld, D. M., Simon, M., Haswell, J. D., D'Abreo, D., Murchison, C., Quinn, J. F., Grafe, M. R., Woltjer, R. L., Kaye, J., & Iliff, J. J. (2017). Association of Perivascular Localization of Aquaporin-4 With Cognition and Alzheimer Disease in Aging Brains. *JAMA Neurol*, 74(1), 91-99. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2016.4370>
- Zhang, D., Li, X., & Li, B. (2022). Glymphatic System Dysfunction in Central Nervous System Diseases and Mood Disorders. *Front Aging Neurosci*, 14, 873697. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.873697>

- Zhang, R., Liu, Y., Chen, Y., Li, Q., Marshall, C., Wu, T., Hu, G., & Xiao, M. (2020). Aquaporin 4 deletion exacerbates brain impairments in a mouse model of chronic sleep disruption. *CNS Neurosci Ther*, 26(2), 228-239. <https://doi.org/10.1111/cns.13194>
- Zhang, S. L., Lahens, N. F., Yue, Z., Arnold, D. M., Pakstis, P. P., Schwarz, J. E., & Sehgal, A. (2021). A circadian clock regulates efflux by the blood-brain barrier in mice and human cells. *Nat Commun*, 12(1), 617. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20795-9>
- Zhang, W., Chen, X. Y., Su, S. W., Jia, Q. Z., Ding, T., Zhu, Z. N., & Zhang, T. (2016). Exogenous melatonin for sleep disorders in neurodegenerative diseases: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Neurol Sci*, 37(1), 57-65. <https://doi.org/10.1007/s10072-015-2357-0>
- Zhou, Y., Cai, J., Zhang, W., Gong, X., Yan, S., Zhang, K., Luo, Z., Sun, J., Jiang, Q., & Lou, M. (2020). Impairment of the Glymphatic Pathway and Putative Meningeal Lymphatic Vessels in the Aging Human. *Ann Neurol*, 87(3), 357-369. <https://doi.org/10.1002/ana.25670>