

Spánek

Neurobiologie chování a paměti

RNDr. Eduard Kelemen, Ph.D.

Národní ústav duševního zdraví
(eduard.kelemen@nudz.cz)

Spánek

Cíle:

Porozumět struktuře spánku a jednotlivým spánkovým stadiím

Porozumět vlivu spánku na konsolidaci paměti

Porozumět neuronální aktivitě během spánku

Spánek

Plán:

Spánková stadia a spánková architektura

Role spánku při konsolidaci paměti – behaviorální studie

Role spánku při konsolidaci paměti – mechanismy

Hypotézy o funkci spánku

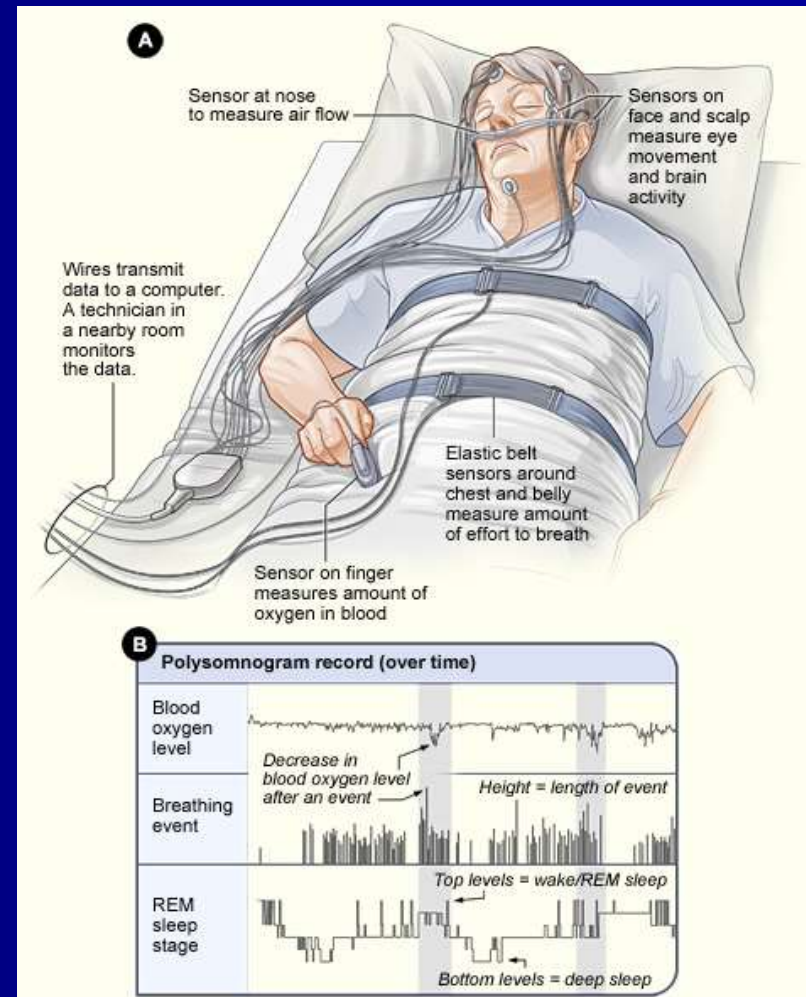
Hypotéza aktivní konsolidace

Hypotéza synaptické homeostázy

Manipulace učení během spánku

Polysomnografie

Spánek se studuje pro klinické i vědecké účely v spánkových laboratořích, jaké máme například v Národním ústavu duševního zdraví. V pokoji hotelového typu stráví pacient nebo dobrovolník noc, během níž je monitorován množstvím senzorů. Nejdůležitější jsou elektrody pro nahrávání elektroencefalografických signálů z mozku (EEG). Ty jsou často vestavěny do čepice. Dále je nahrávána elektrická aktivita doprovázející pohyby očí. A někdy také dýchací pohyby nebo saturace krve kyslíkem.



Spánková stadia

Během spánku se EEG aktivita dramaticky mění. Na základě vzorce EEG aktivity se rozlišuje několik spánkových stadií:

- V **bdělosti** má EEG nízkou amplitudu a je nepravidelné.
- Během **ospalosti** se zavřenýma očima je přítomná pravidelná aktivita s frekvencí asi 10 Hz – alfa vlny.
- Ve **stadiu non-REM 1 (N1)** se vyskytuje nízká amplituda s občasnými théta vlnami (frekvence asi 5 Hz).
- Ve **stadiu non-REM 2 (N2)** se objevují spánková vřetena (10-15 Hz) a K-komplexy.
- Během **stadia non-REM 3 (N3)** (zvaného taky spánek pomalých vln) jsou přítomny pomalé oscilace (<4 Hz) s vysokou amplitudou.
- V **REM spánku** je EEG podobné bdělosti. Jsou přítomny charakteristické rychlé oční pohyby.

bdělost



ospalost

alfa



stadium N1

théta



stadium N2

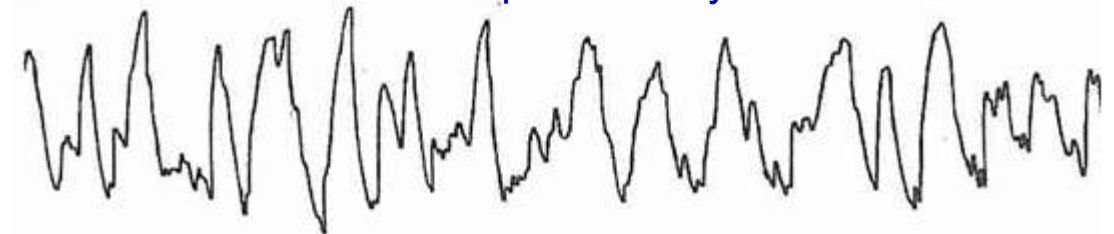
spánková vřetena

K-komplex

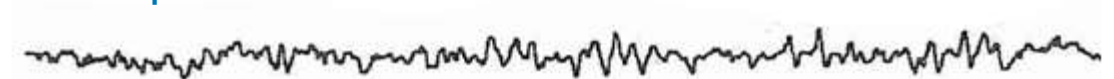


stadium N3

pomalé vlny



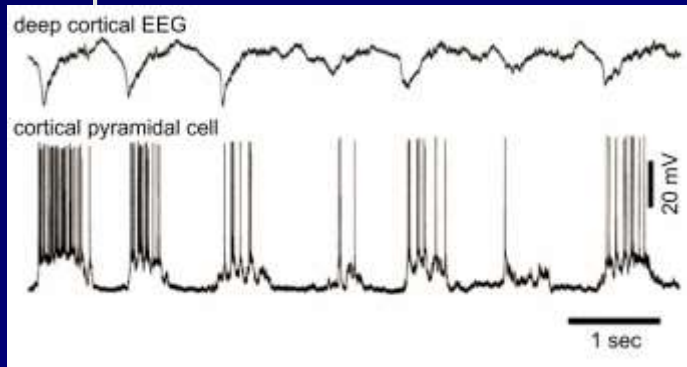
REM spánek



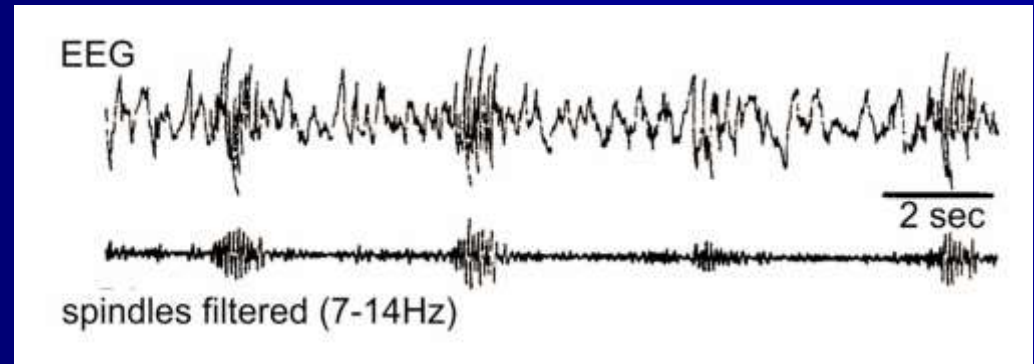
Ilustrace charakteristických vzorců EEG aktivity během různých stadií spánku

non-REM spánek

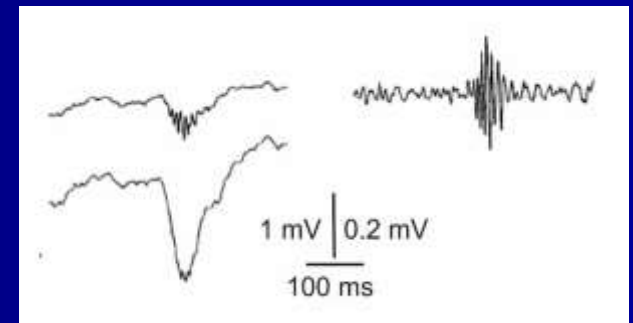
Pomalé vlny



Spánková vřetena



„Sharp waves ripples“ v hipokampu

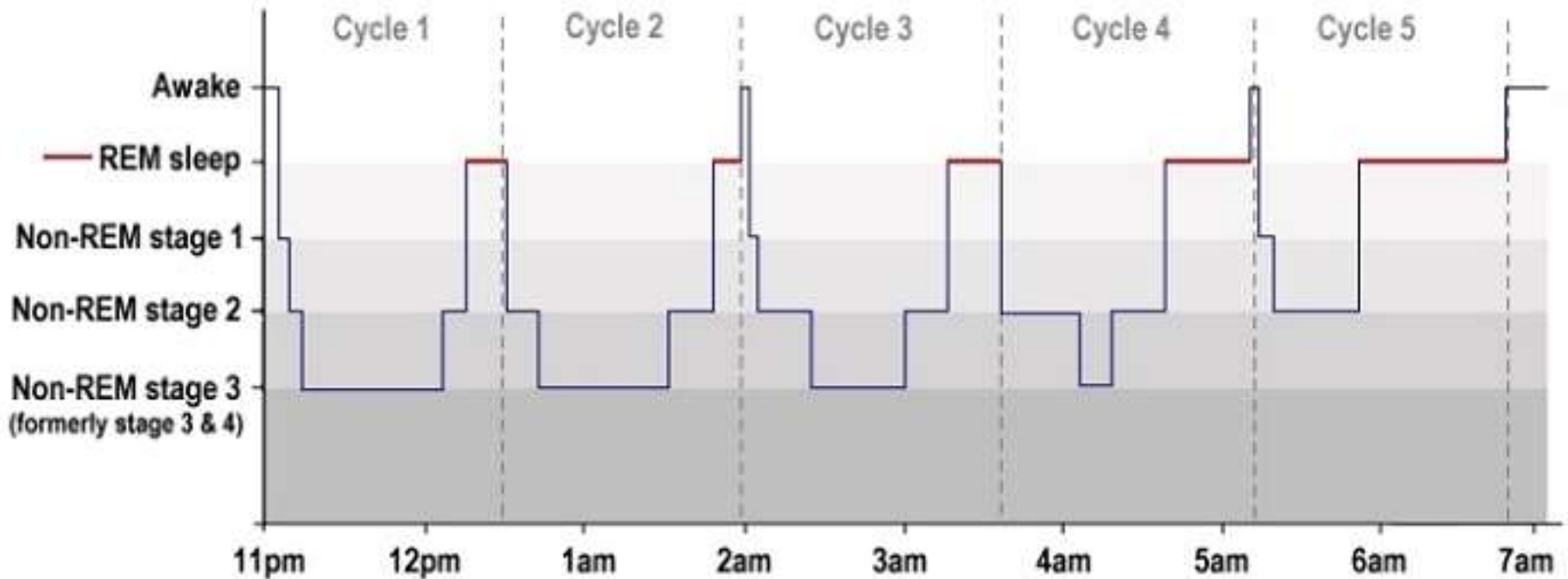


REM spánek

Théta oscilace v hipokampu



Hypnogram



Během normálního nočního spánku u lidí se jednotlivá spánková stadia střídají podle organizovaného vzorce. Učebnicová ilustrace střídání jednotlivých spánkových stadií je znázorněna na obrázku. Bdělost je typicky následována stadiem N1, které přechází do stadia N2 a N3 – nejhlubšího spánku. Stadium N3 je typicky následováno REM spánkem, ze kterého se člověk probouzí, nebo naopak opět upadá do non-REM spánku. Cyklus N1-N2-N3-REM se opakuje několikrát za noc. S postupující nocí čas strávený v N3 klesá a čas v REM spánku narůstá.

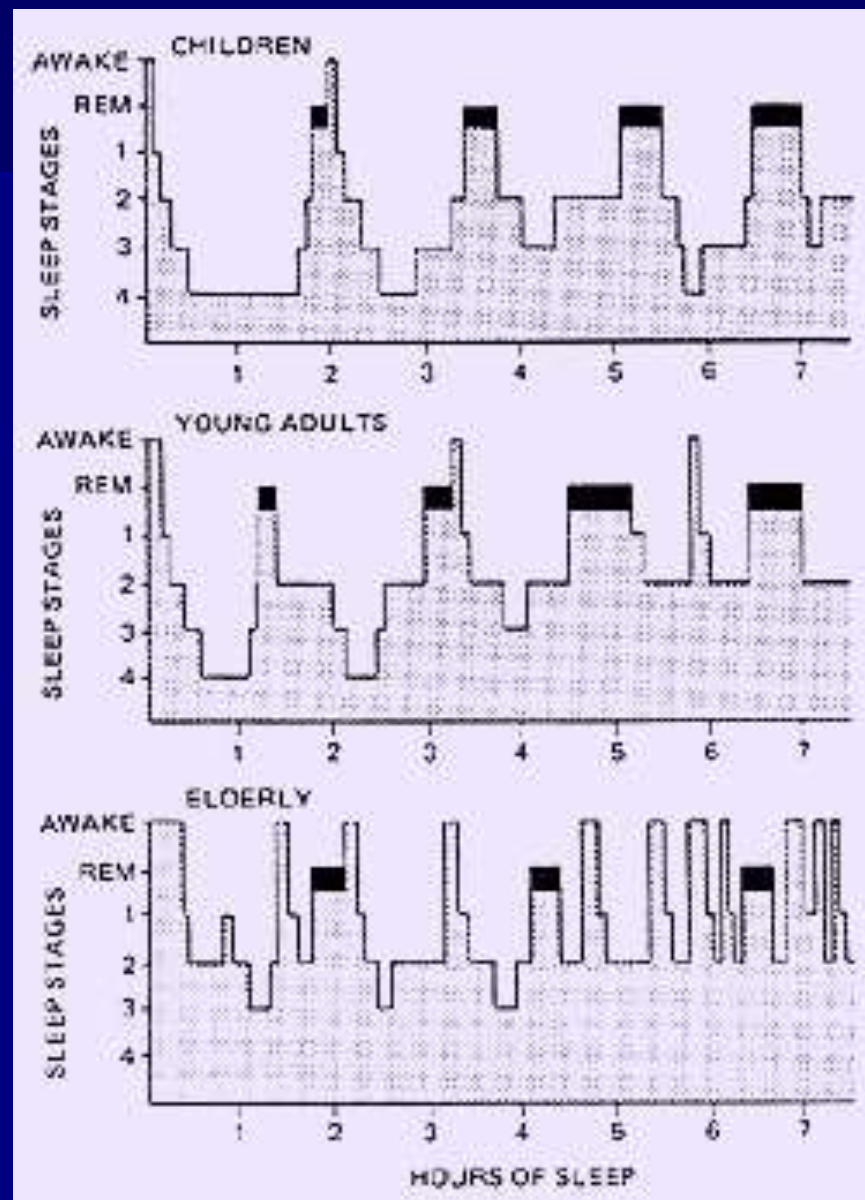
Věkem podmíněné změny ve struktuře spánku

Struktura spánku se mění s věkem.

V dětství je čas strávený v nejhlubším spánku N3 nejdelší, s věkem klesá. V dětství je také spánek nejméně přerušován krátkými probuzeními během noci.

Během dospělosti podíl N3 spánku klesá.

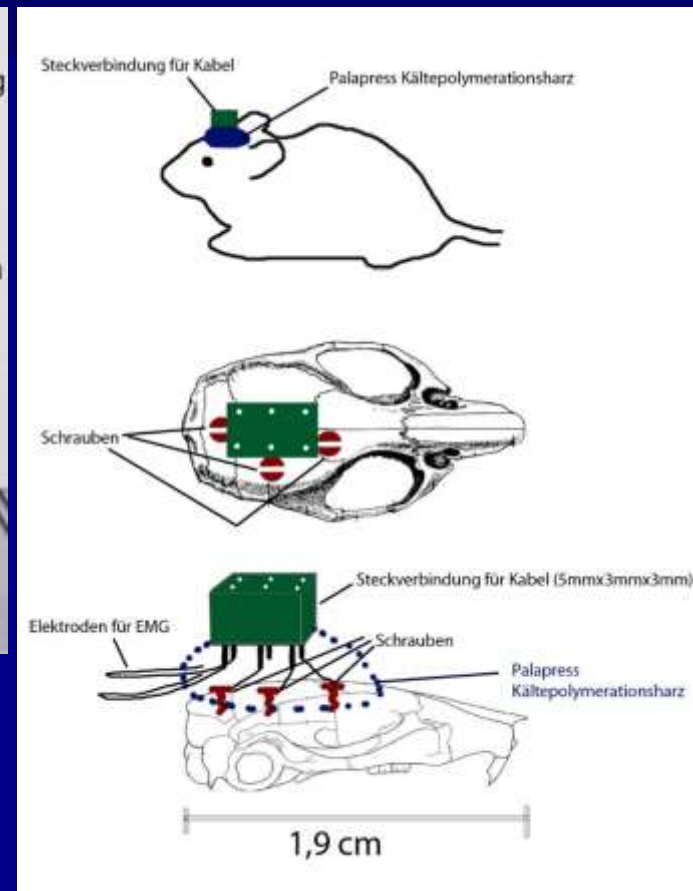
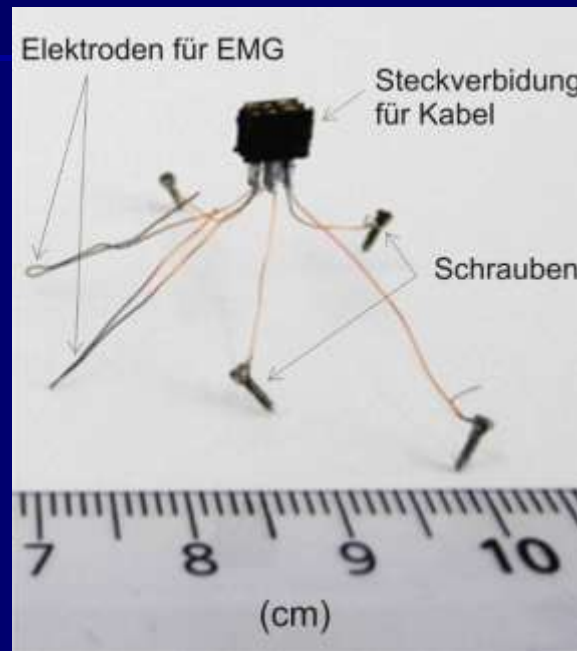
Ve stáří je čas strávený v nejhlubších spánkových stádiích nejnižší, počet probuzení během noci je signifikantně vyšší. Spánek je tak mělkčí a fragmentovanější.



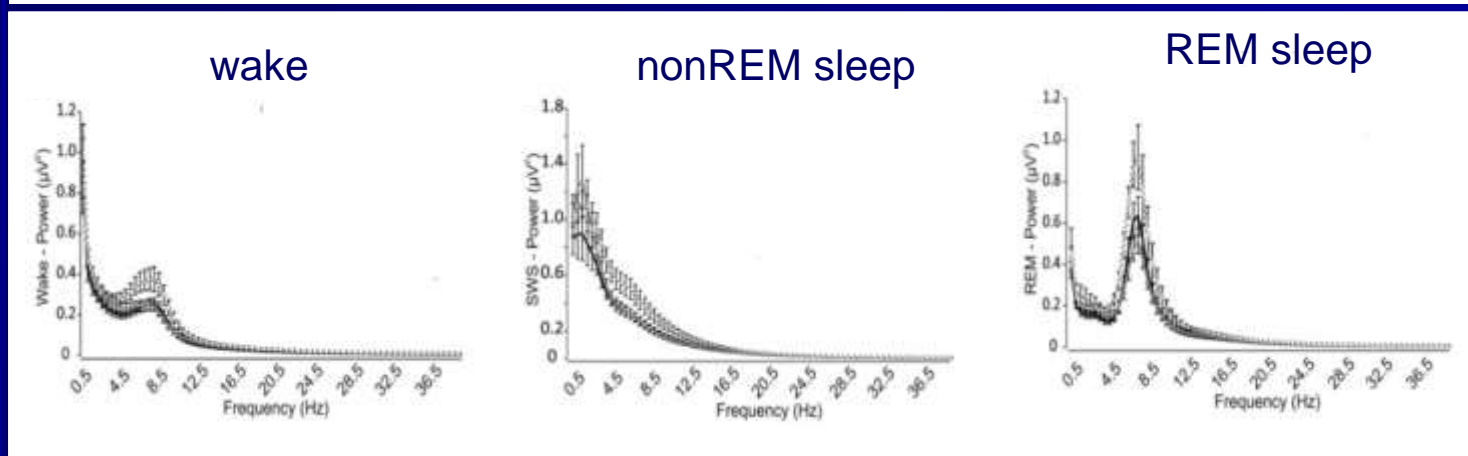
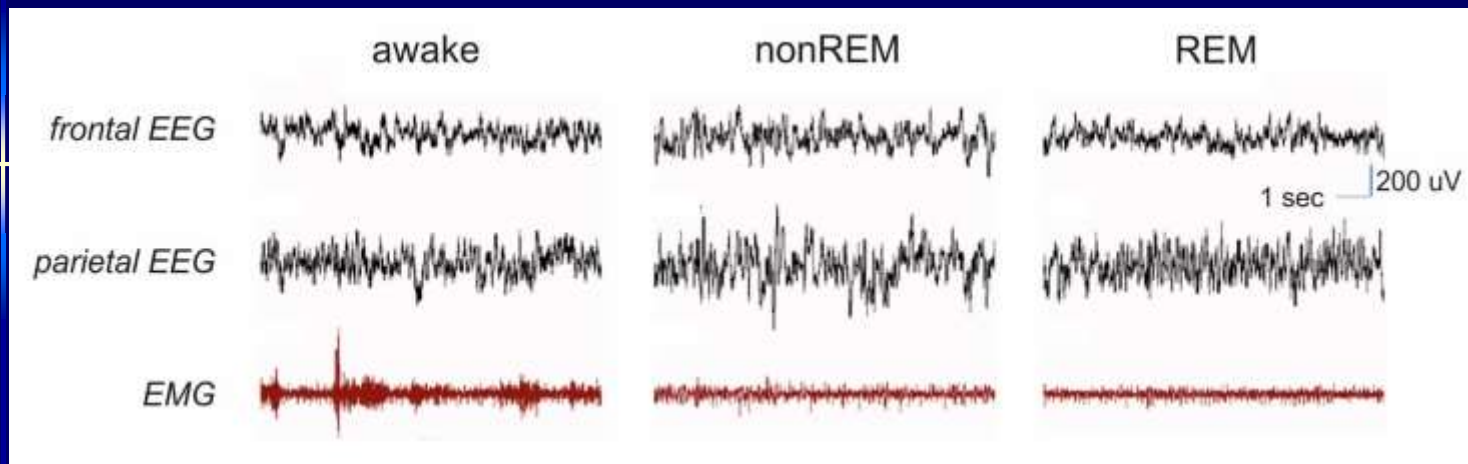
Studium spánku u laboratorních myší

U laboratorních zvířat, myší nebo potkanů, se jako EEG elektrody používají drobné hodinářské šroubky, které jsou permanentně implantovány do lebky zvířete. Svalová aktivita je snímána pomocí drátků implantovaných nad krční svaly, které slouží jako EMG elektrody.

Šroubky a EMG elektrody jsou propojeny s miniaturním konektorem, který je také permanentně implantován k lebce. (Všechny chirurgické procedury se samozřejmě provádějí v aseptických podmínkách a v plné anestezii.) Během nahrávání v experimentu se konektor propojí kabelem se zesilovači a nahrávací aparaturou.



Spánek u laboratorních myší

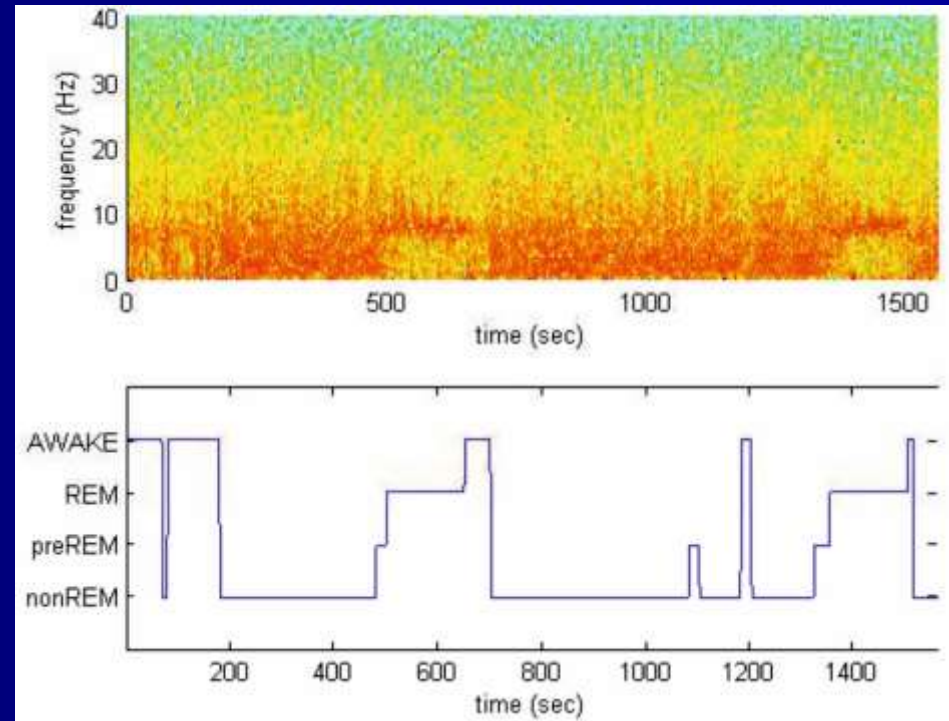
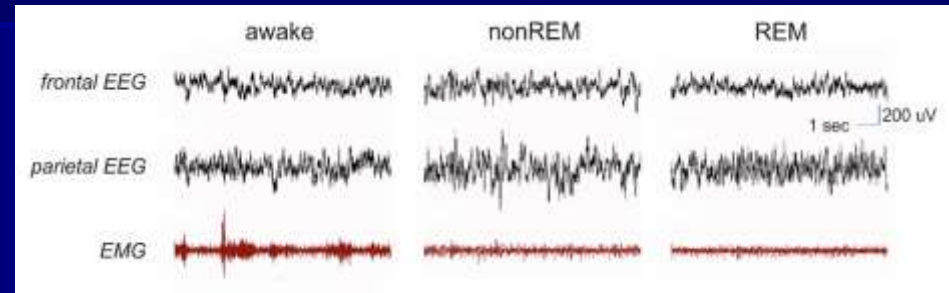


Příklad spánkové nahrávky u myší. V bdělosti je detekována svalová aktivita v EMG záznamu. Během non-REM spánku dominují EEG pomalé vlny (<4 Hz). Během REM spánku je u hlodavců v EEG přítomna théta aktivita (kolem 8 Hz). Spodní obrázky ukazují výkonová spektra EEG nahrávek během různých spánkových stadií. I tady jsou vidět dominující pomalé frekvence během non-REM spánku a dominantní théta aktivita během bdělosti a REM spánku.

Spánek u laboratorních myší

Příklad hypnogramu u myší. Počet rozlišovaných spánkových stadií je u hlodavců nižší než u lidí. Všimněte si, že podobně jako u lidí i tady se střídají cykly bdělosti, non-REM spánku a REM spánku.

Barevný obrázek uprostřed znázorňuje změny ve výkonových spektrech EEG v čase. Teplé barvy znázorňují vyšší výkon, studené barvy nižší.



Spánek

Plán:

Spánková stadia a spánková architektura

Role spánku při konsolidaci paměti – behaviorální studie

Role spánku při konsolidaci paměti – mechanismy

Hypotézy o funkci spánku

Hypotéza aktivní konsolidace

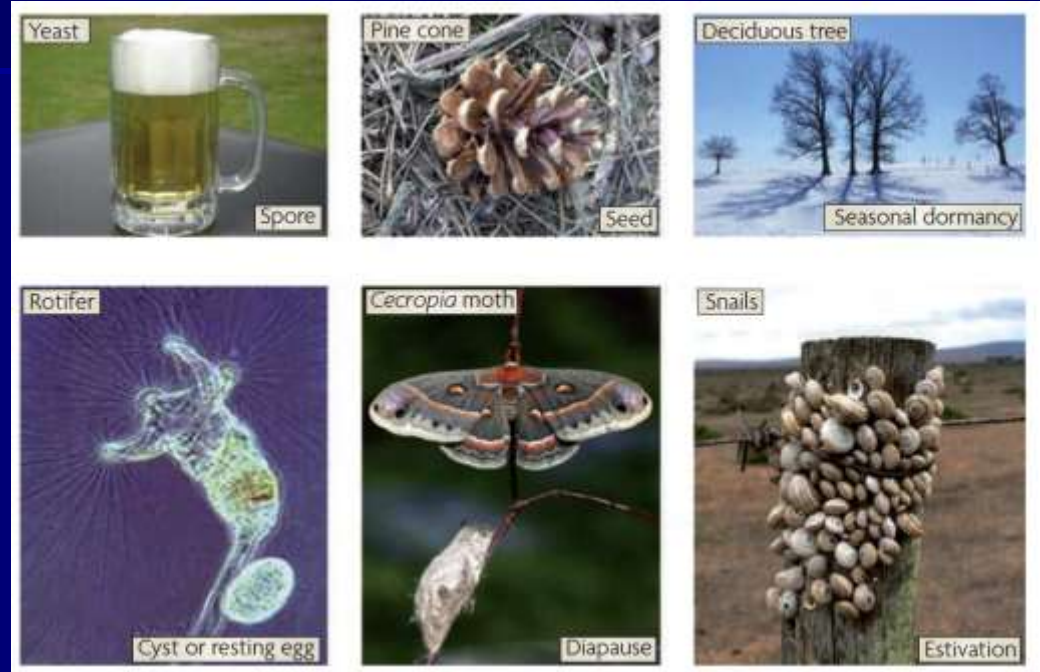
Hypotéza synaptické homeostázy

Manipulace učení během spánku

Spánek jako stav adaptivní inaktivity

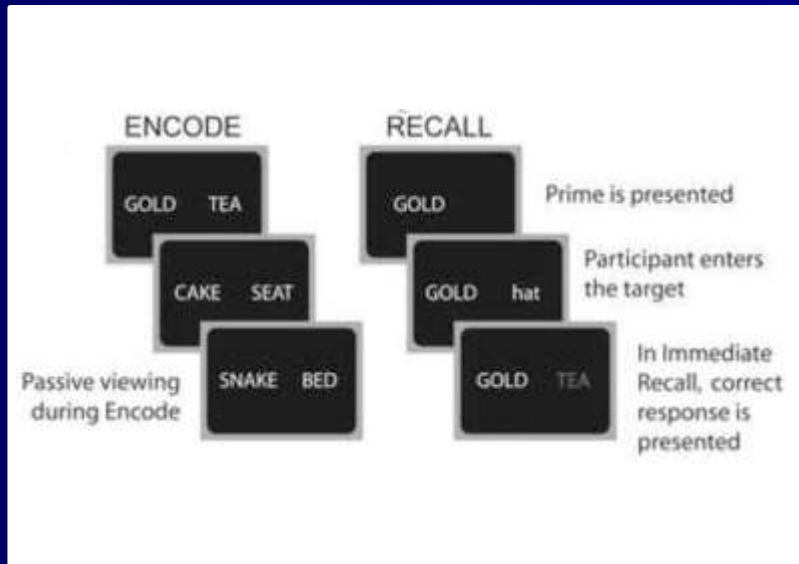
Než přistoupíme k hlavnímu tématu - spánku a jeho paměťových funkcím, rád bych předeslal, že na tomto tématu nepanuje úplná shoda. Někteří považují spánek za *pasivní* stav, kterým organismus šetří energii a přečkává nepříznivé vnější podmínky. Je to podobné jako u rostlin během dormantních stavů.

Nicméně mnoho důkazů ukazuje, že spánek hraje *aktivní* roli v správné funkci metabolismu, imunitního systému a mozku. Právě na funkci spánku v procesech učení se v této přednášce soustředíme.



Spánek posiluje paměť - specifická role spánku pomalých vln a REM spánku

Učení se párů slov

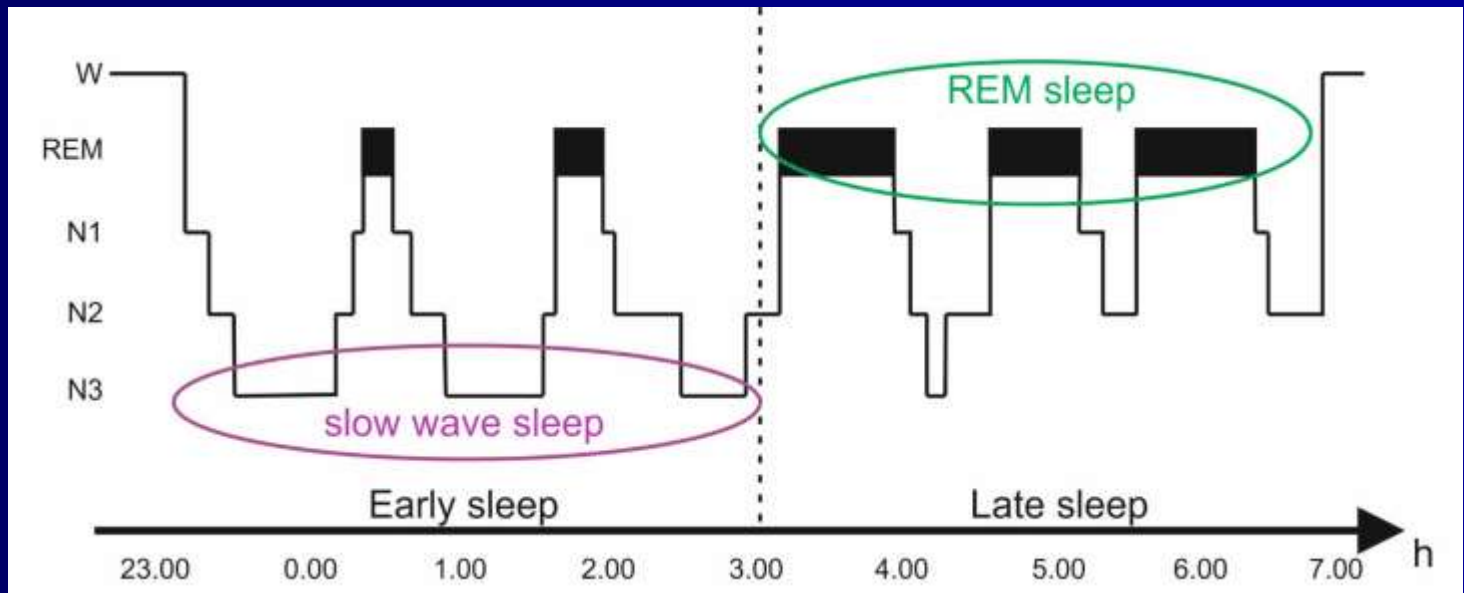


Obkreslování v zrcadle



V prvním pokusu, který představím, se dobrovolníci učili dvěma úkolům: 1) Učili se spojovat páry slov - to vyžaduje na hipokampu závislou, deklarativní paměť. 2) A učili se obkreslování v zrcadle - to je na hipokampu nezávislá, procedurální paměť.

Spánek posiluje paměť - specifická role spánku pomalých vln a REM spánku



Po učení dobrovolníci spali: buďto během první poloviny noci - bohaté na non-REM spánek, nebo během druhé poloviny noci - bohaté na REM spánek. Kontrolní skupina dobrovolníků se taky učila oba úkoly, ale nebylo jim dovoleno spát.

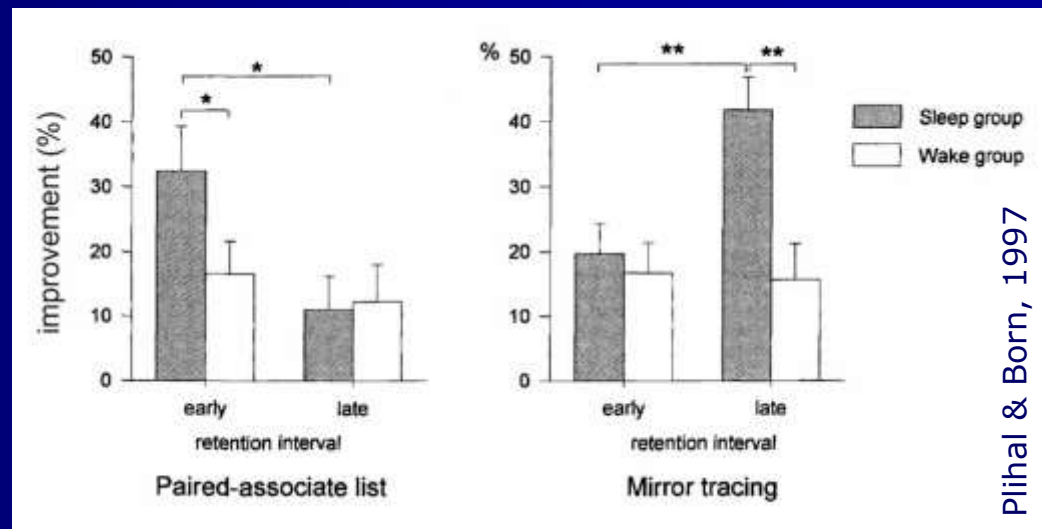
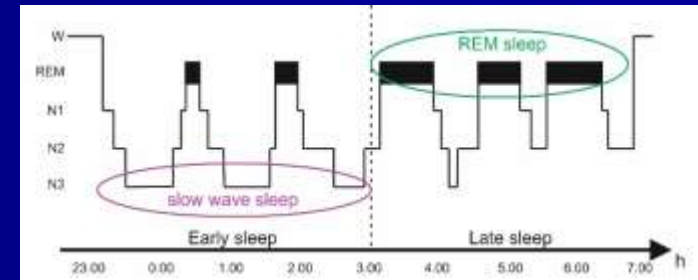
Po spánku (nebo bdělosti) byli dobrovolníci testováni v obou úkolech.

Spánek posiluje paměť - specifická role spánku pomalých vln a REM spánku

Obrázek dole ukazuje zlepšení úspěšnosti ve dvou úkolech, které následovalo po spánku během první a druhé poloviny noci, a zlepšení po stejných intervalech bdělosti.

Obrázek dole vlevo ukazuje výsledky v úkolu učení se párů slov. Lidé, kteří spali v první půlce noci, se zlepšili o víc než 30%, zatímco ti, co spali během druhé půlky noci nebo nespali vůbec, se zlepšili o zhruba 15%. Spánek v první půlce noci zlepšuje konsolidaci deklarativní, na hipokampu závislé paměti.

Pravý obrázek ukazuje výsledky v úkolu obkreslování v zrcadle. Lidé, kteří spali ve druhé půlce noci, se zlepšili o víc než 40%, zatímco ti, co spali během první půlky noci nebo nespali vůbec, se zlepšili o zhruba 15%. Spánek v druhé polovině noci zlepšuje konsolidaci procedurální, na hipokampu nezávislé paměti.



Spánek posiluje konsolidaci paměti

non-REM spánek

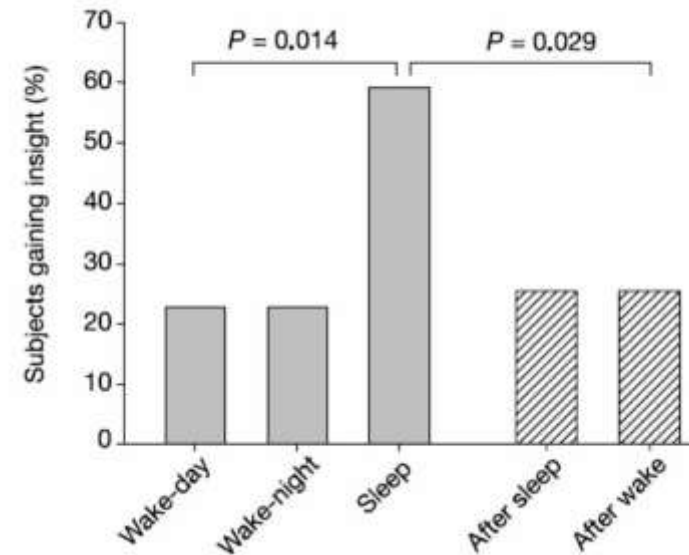
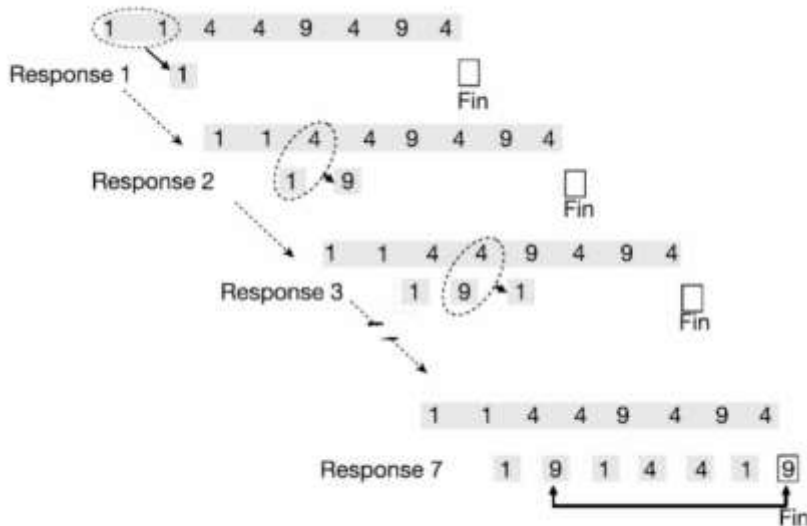
- Posiluje konsolidaci paměti závislé na hipokampu, jako je deklarativní paměť u lidí, nebo prostorová paměť u lidí a zvířat.

REM spánek

- Posiluje konsolidaci procedurální paměti.
- Posiluje konsolidaci emoční paměti.

Spánek nejenom posiluje paměť, ale může ji taky kvalitativně měnit - to si ukážeme na následujících příkladech.

Spánek pomáhá odhalení skrytých řešení v početních úkolech

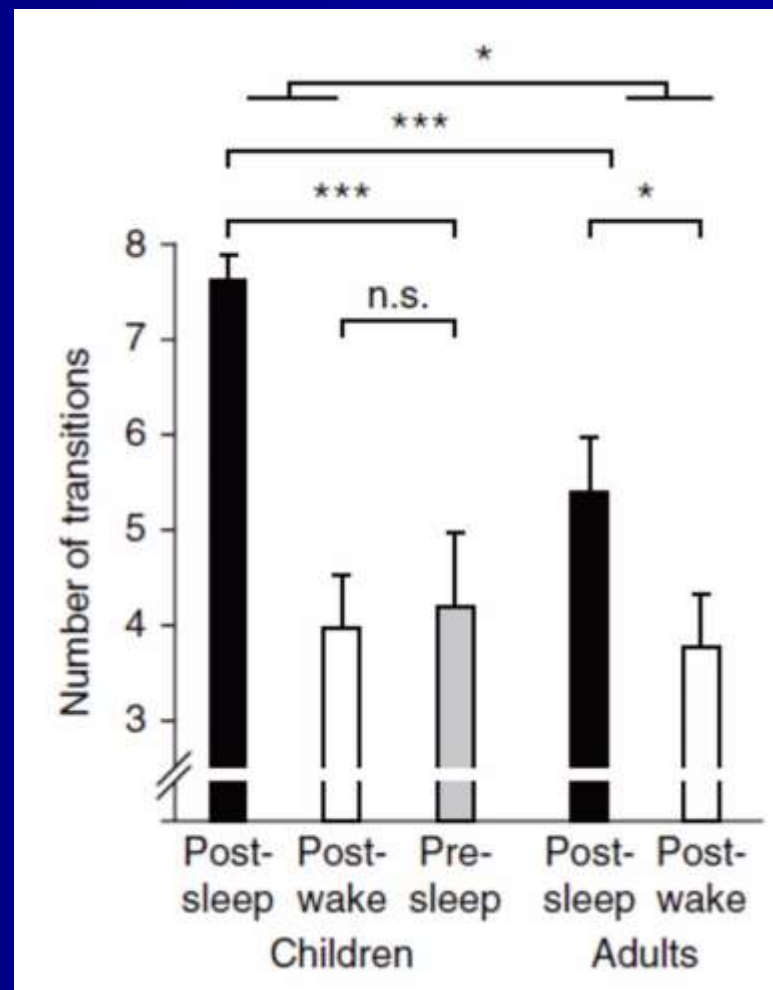
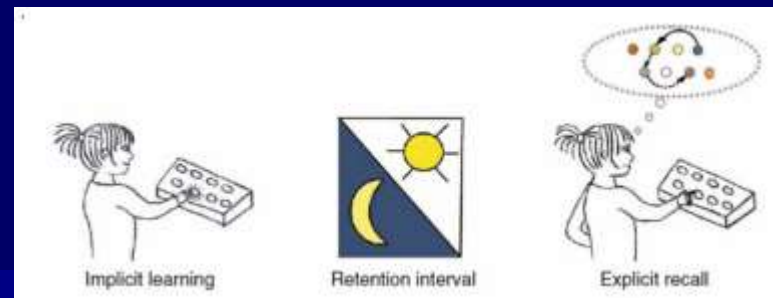


V této studii se dobrovolníci učili početní úkol, který měl dva způsoby řešení - pomalý a rychlý postup. Dobrovolníci byli seznámeni s pomalým postupem a procvičovali si ho. Po konsolidačním intervalu, který strávili spánkem nebo v bdělosti, byli znovu testováni. Někteří z dobrovolníků objevili skryté, rychlé řešení, t.j. získali vhled do úkolu. Podíl dobrovolníků, kteří objevili skryté řešení, závisel na podmínkách konsolidace: skryté řešení objevilo 60% spáčů, ale jenom něco přes 20% bdících.

Spánek pomáhá odhalení skrytých pravidel – při přeměně implicitní znalosti v explicitní

V tomto pokusu dobrovolníci (v tomto případě dospělí i děti) pracovali s "klávesnicí" s osmi tlačítky, které se rozsvěcovali a zhasínali. Úkol byl jednoduchý - i pro děti - a to zmáčknout co nejrychleji tlačítko, které se zrovna rozsvítilo. Pokusným osobám nebylo řečeno, že se tlačítka rozsvěcují v pravidelném pořadí. Nicméně, aniž by si byly vědomi pořadí, s tréninkem se reakce osob zrychlovaly, pokud bylo dodrženo pravidelné pořadí v trénované sekvenci. Reakce ale byly pomalejší, pokud se tlačítka rozsvěcovala náhodně. To je důkaz vytvoření implicitní, nevědomé paměti pro sekvenci.

Po intervalu spánku nebo bdělosti, byly osoby znovu testovány, ale tentokrát se jich experimentátoři ptali na to, které tlačítko se rozsvítí jako následující - testovali tedy explicitní paměť pro sekvenci. Počet správných odpovědí porovnávali mezi skupinami. Po spánku prokázali dobrovolníci lepší explicitní znalost než po intervalu bdělosti. Tento efekt byl silnější u dětí než u dospělých.



Spánek

Plán:

Spánková stadia a spánková architektura

Role spánku při konsolidaci paměti – behaviorální studie

Role spánku při konsolidaci paměti – mechanismy

Hypotézy o funkci spánku

Hypotéza aktivní konsolidace

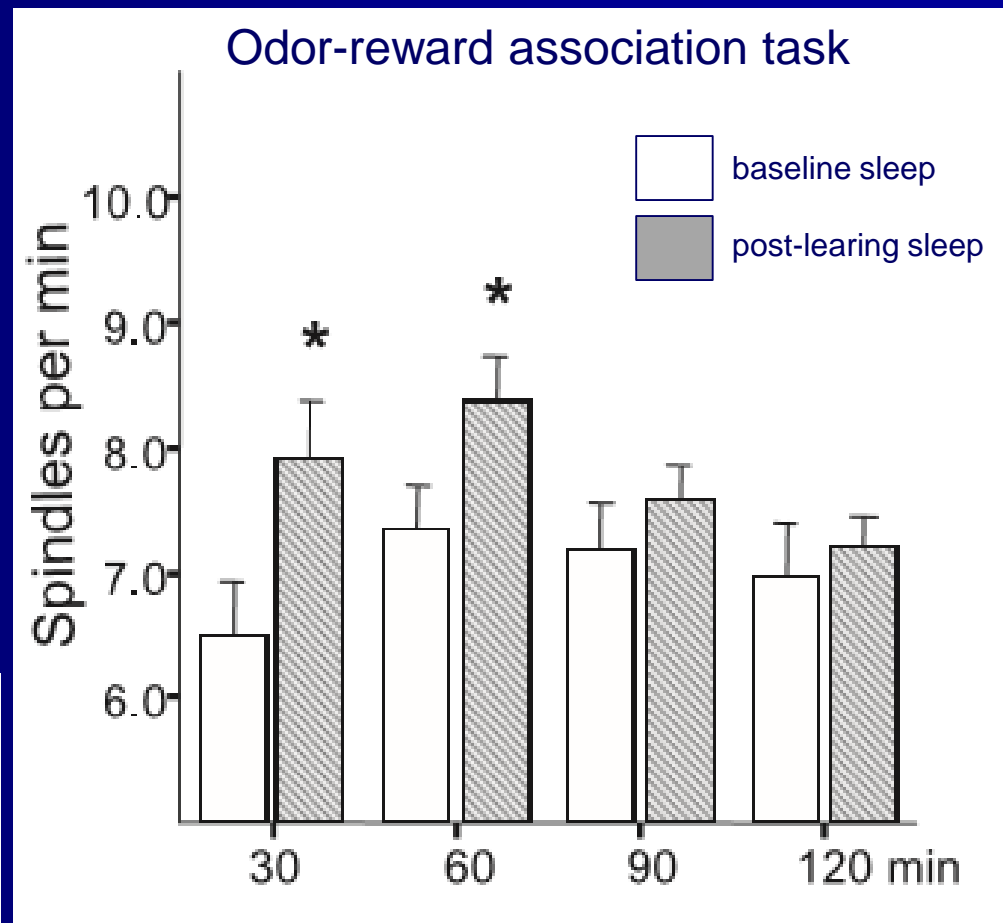
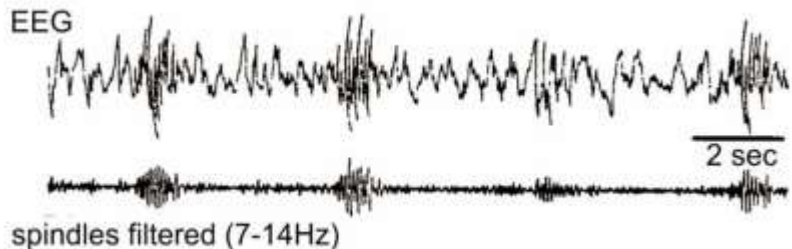
Hypotéza synaptické homeostázy

Manipulace učení během spánku

Densita spánkových vřetének vzrůstá po učení

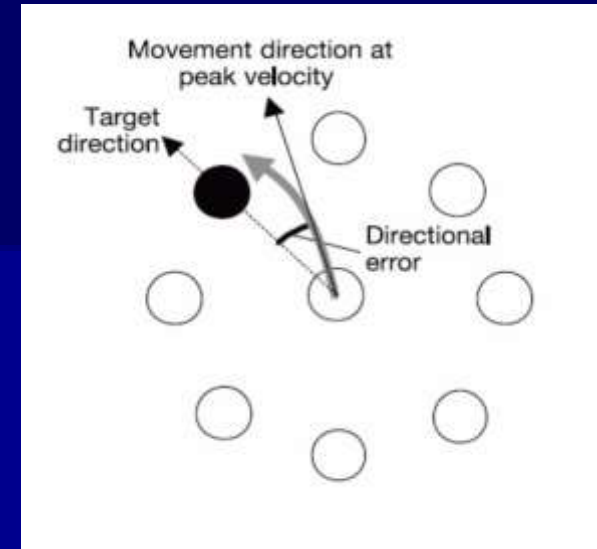
V tomto pokusu se potkani učili asociovat vůni s odměnou. Bylo jim nabízeno několik hrnků s pískem s různými vůněmi, a jenom jedna byla odměněna. Úkolem potkanů bylo hrabat v hrnku se správnou vůní, kde byla ukryta odměna. Spánek byl nahráván před a po učení, a byl porovnán výskyt spánkových vřeten.

Po učení vzrostl výskyt spánkových vřeten. Tento pokus demonstruje korelaci mezi učením a výskytem spánkových vřeten a ukazuje na jejich možnou roli v konsolidaci paměťové stopy.

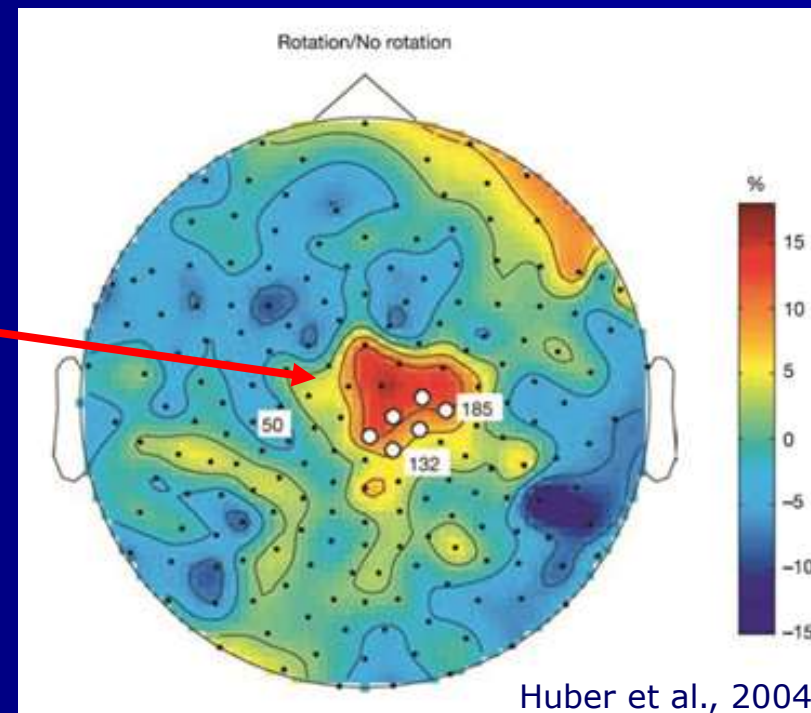
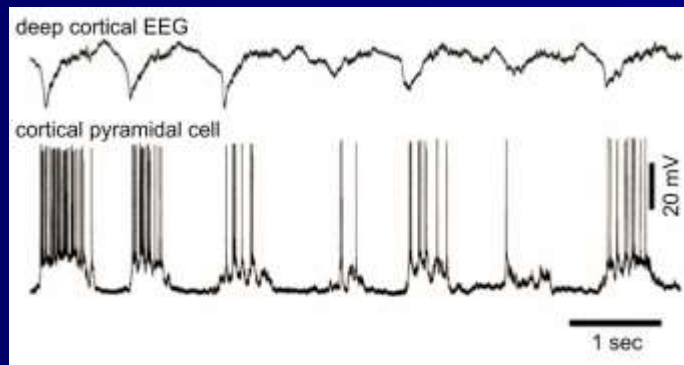


Amplituda pomalých vln vzrůstá po učení, a to specificky v oblastech kůry, které se podílely na učení

V této úloze se lidé dívali na počítačový monitor s devíti kroužky - jeden byl uprostřed, a dalších osm kolem. Úkolem bylo pohybovat kurzorem na obrazovce tak, aby ho posunuli z centrálního kroužku do jednoho z osmi kroužků po obvodu, který se vybarvil černě. Dobrovolníci se museli naučit kompenzovat systematický, počítačem navozený posun kurzoru o určitý úhel. V jistém smyslu je úkol podobný kreslení v zrcadle, kdy pohyb vlastní ruky, který lidé vidí, neodpovídá tomu, co očekávají.



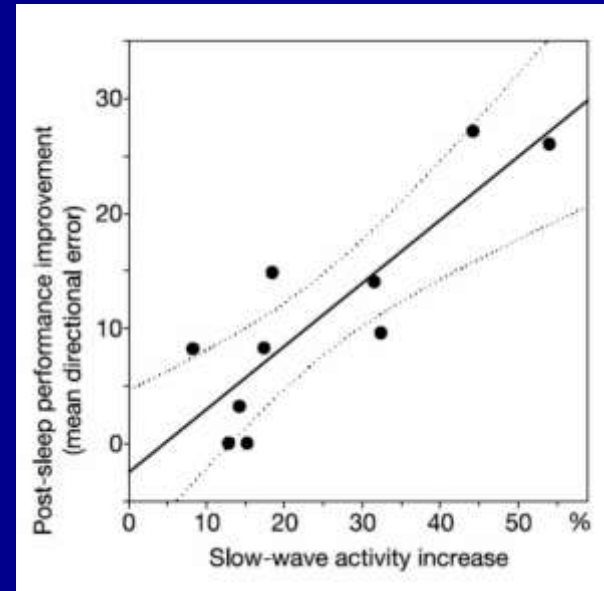
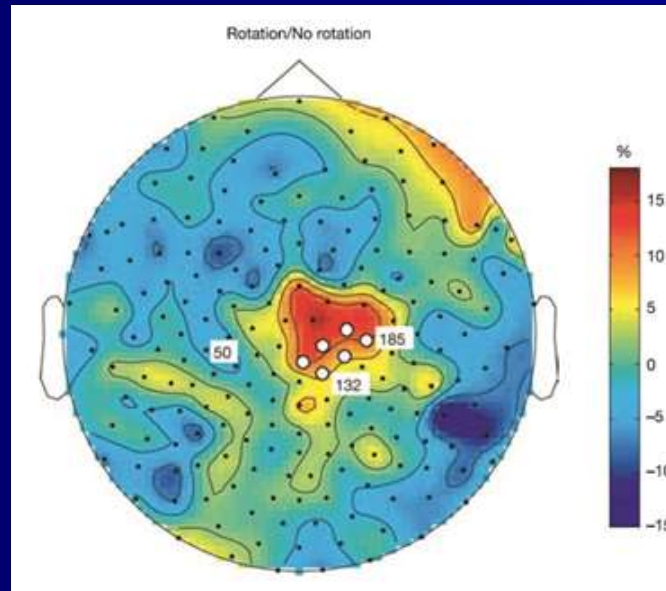
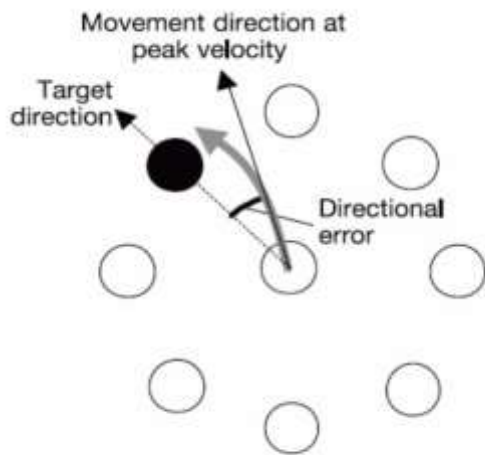
Během spánku po učení byl pozorován zvýšený výskyt pomalých vln, a to specificky v korové oblasti, která se v tomto úkolu aktivuje.



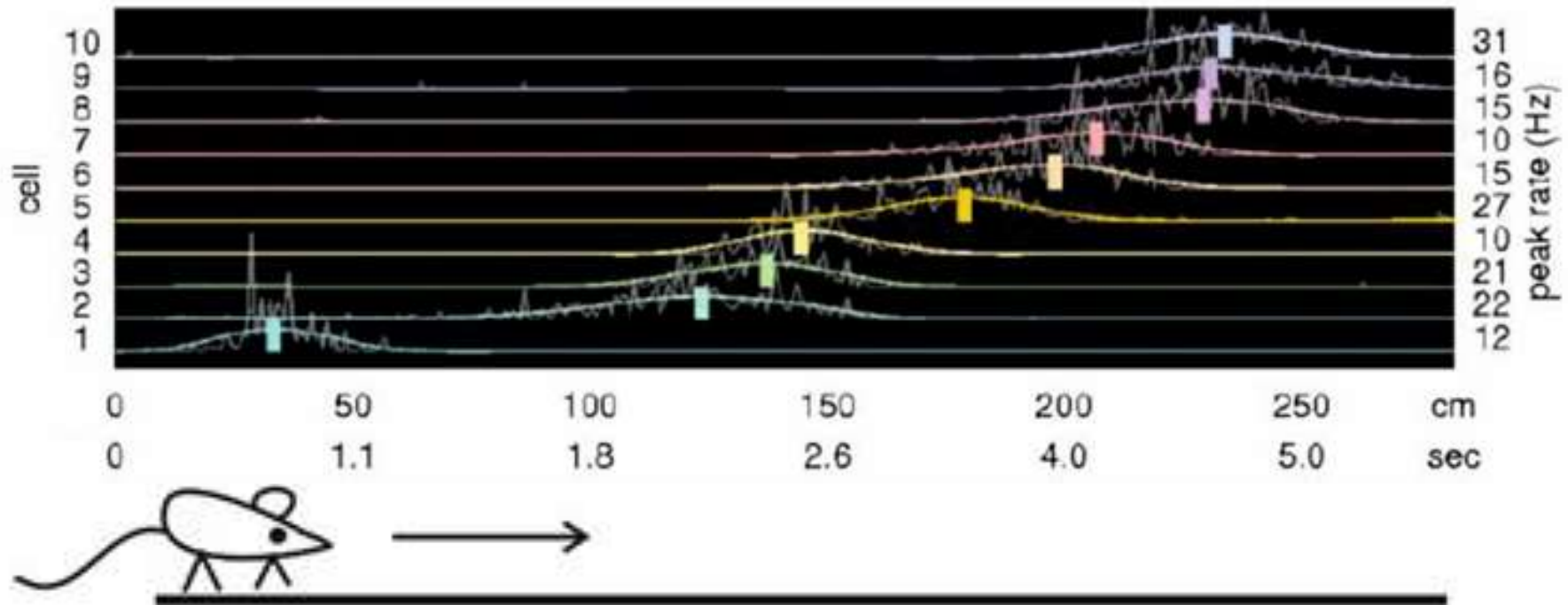
Huber et al., 2004

Nárůst aktivity pomalých vln koreluje se zlepšeným učením

Posílení pomalých oscilací během učení korelovalo se zlepšením v úkolu. Více pomalých oscilací vedlo k výraznějšímu zlepšení.



Přehrávání (replay) naučené neuronové aktivity během non-REM spánku



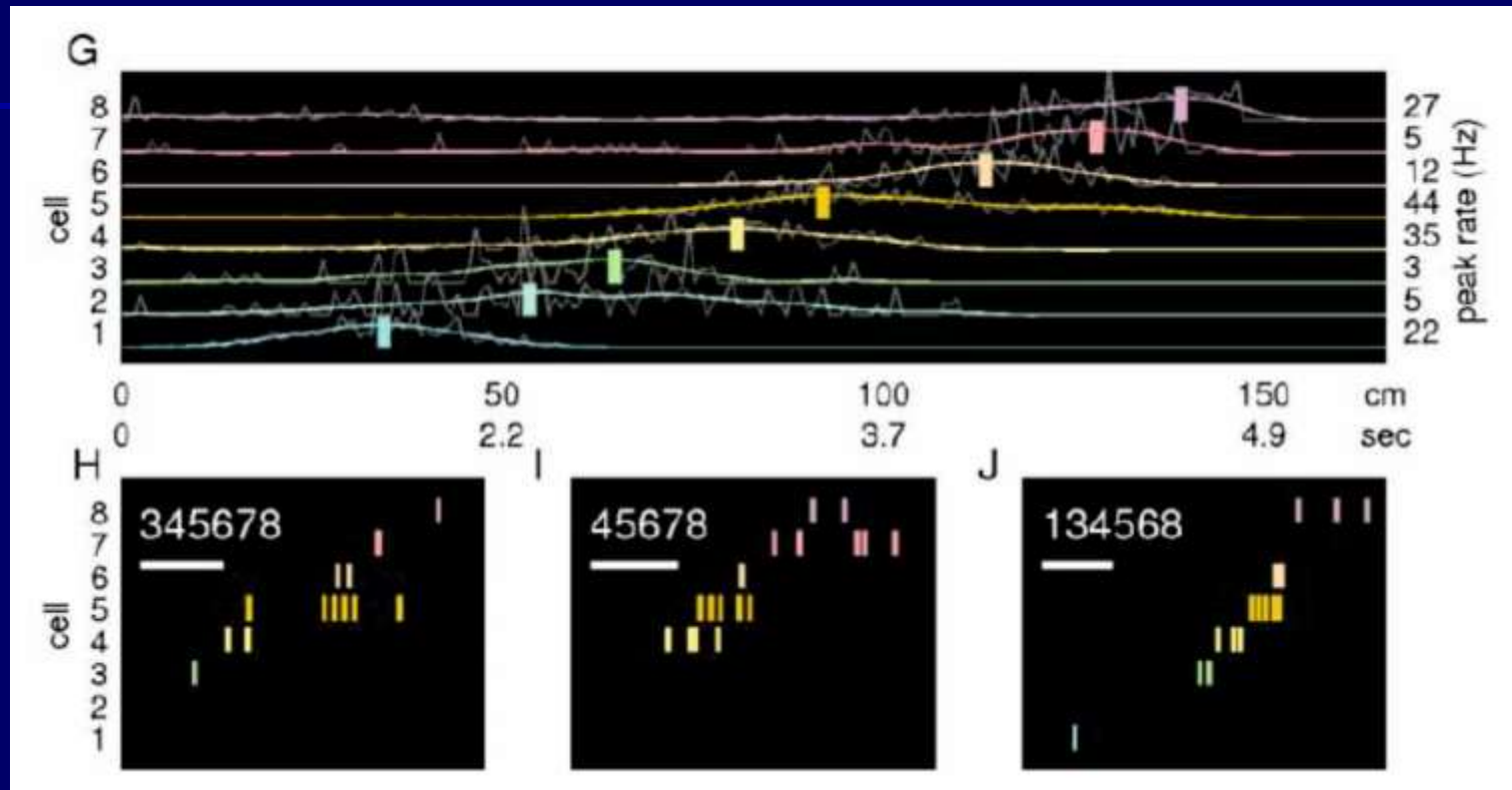
V tomto experimentu nejdřív potkan opakovaně běhal po lineární dráze zleva doprava. Pomocí implantovaných elektrod byla nahrávána aktivita hipokampálních pozičních neuronů (place cells). Na obrázku je znázorněna aktivita deseti z nich. Neuron 1 měl aktivační místo poblíž začátku dráhy, neuron 2 o něco později, atd. Během pohybu po dráze se proto neurony aktivovali v sekvenci 1, 2, 3,..., až 10.

Přehrávání naučené neuronové aktivity během non-REM spánku

Aktivita během běhání na aréně

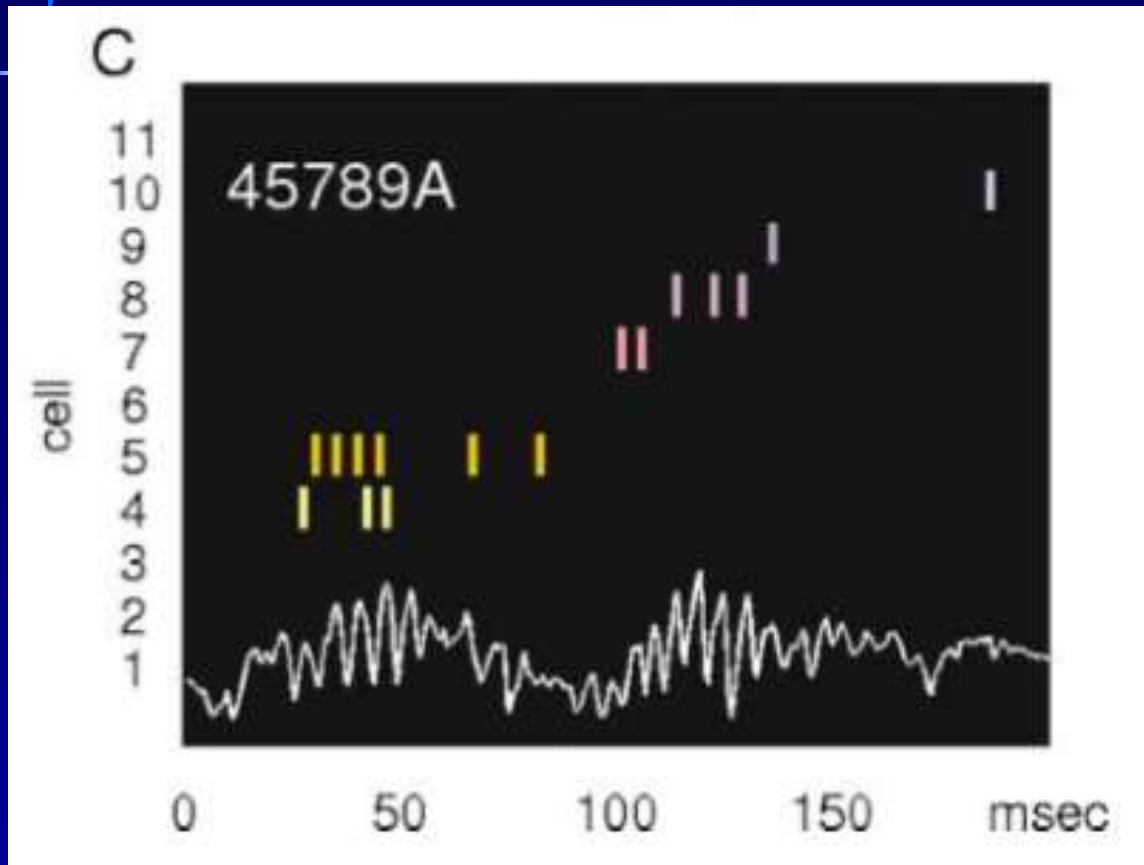


Aktivita během následujícího non-REM spánku



Během spánku, který následoval bezprostředně po běhání na aréně, byla opět nahrávána aktivita stejných 10 neuronů. Nejenom, že se ve spánku aktivovali stejné neurony, ale aktivovali se často ve stejném pořadí, jako na aréně. K tomuto přehrávání neuronální aktivity docházelo během non-REM spánku. Obrázek ukazuje tři příklady přehrávání aktivity.

Přehrávání (replay) se odehrává v průběhu hipokampových ripples



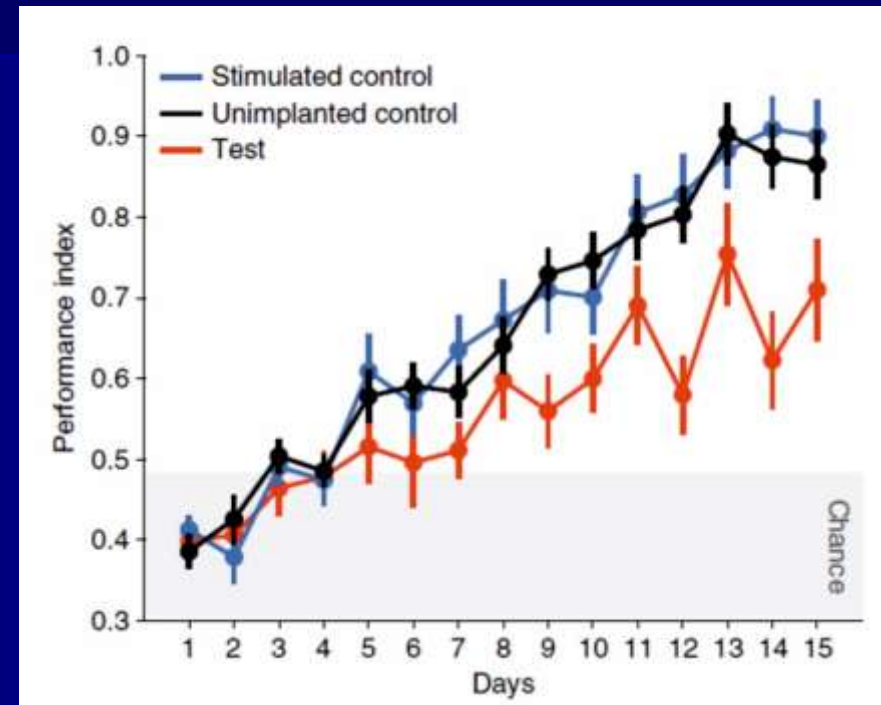
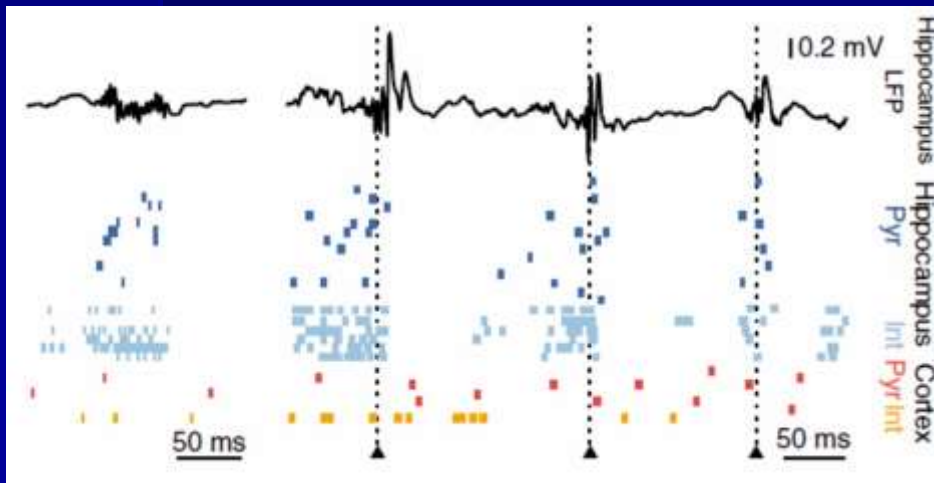
Aktivita neuronů

Lokální EEG

K přehrávání neuronální aktivity dochází v non-REM spánku a to zejména tehdy, když se v lokálním hipokampálním EEG objevují tzv. „sharp waves-ripples“ – oscilace z frekvencí 150-250 Hz trvající desítky milisekund. Toto jsou okamžiky zvýšené aktivity hipokampálních neuronů.

Blokování hipokampových ripples spomaluje na hipokampu závislé učení

Následující pokus měl za cíl otestovat, zda hipokampální „sharp waves / ripples“ a s nimi spojené přehrávání neuronální aktivity má kauzální vztah ke konsolidaci paměti. Potkani se po několik dní učili prostorový úkol na radiálním bludišti. Během spánku po učení, byla u jedné skupiny potkanů (**Test**) aplikována elektrická stimulace, vždy těsně poté, co byl detekován začátek sharp wave / ripples. Tato stimulace přerušila rozvíjející se neuronální aktivitu – a tedy i přehrávání (obrázek vlevo dole).



U kontrolní skupiny potkanů (**Stimulated control**) byla stejná stimulace aplikována mimo sharp waves / ripples. Potkani se zablokovanými sharp waves / ripples se učili pomaleji než kontrolní potkani (obrázek vpravo nahoře).

Spánek

Plán:

Spánková stadia a spánková architektura

Role spánku při konsolidaci paměti – behaviorální studie

Role spánku při konsolidaci paměti – mechanismy

Hypotézy o funkci spánku

Hypotéza aktivní konsolidace

Hypotéza synaptické homeostázy

Manipulace učení během spánku

Hypotéza aktivní konsolidace

Podle této hypotézy se ve spánku aktivně reorganizují paměťové stopy (engramy).

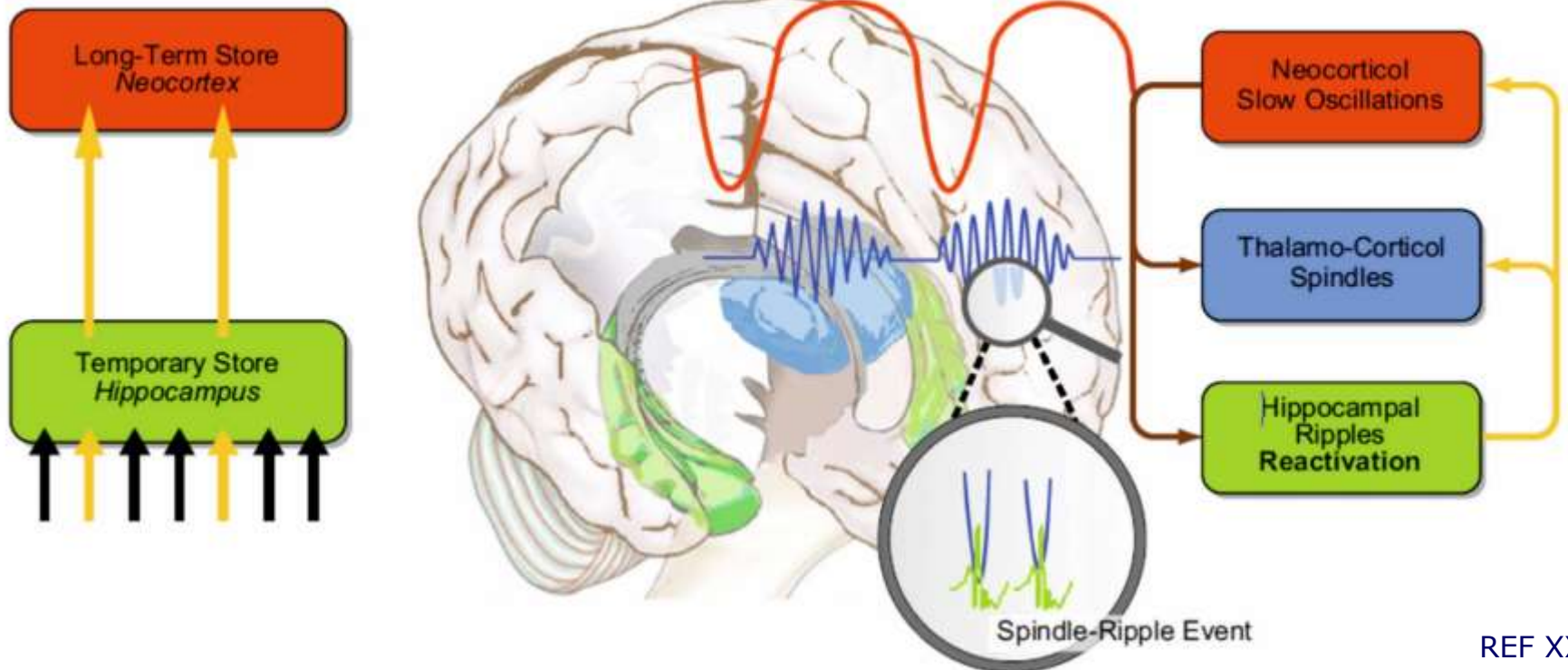
Během non-REM spánku dochází k systémové konsolidaci. Systémovou konsolidací se míní přenos paměťové informace z hipokampu, který slouží jako krátkodobé úložiště, do neokortexu, kde jsou paměťové stopy uloženy dlouhodobě.

Během REM spánku dochází k synaptické konsolidaci, t.j. lokálnímu posílení synapsí.

(Tato hypotéza je propagována Janem Bornem, z Univerzity v Tübingenu)

Hypotéza aktivní konsolidace

Důležitou roli připisuje hypotéza aktivní konsolidace oscilacím EEG během spánku. Synchronizace neokortikálních pomalých vln, kortiko-talamických spánkových vřetének a hipokampálních „ripples“ synchronizuje neuronální aktivitu mezi těmito oblastmi a umožňuje tak organizovaný přenos informace.



Hypotéza synaptické homeostázy

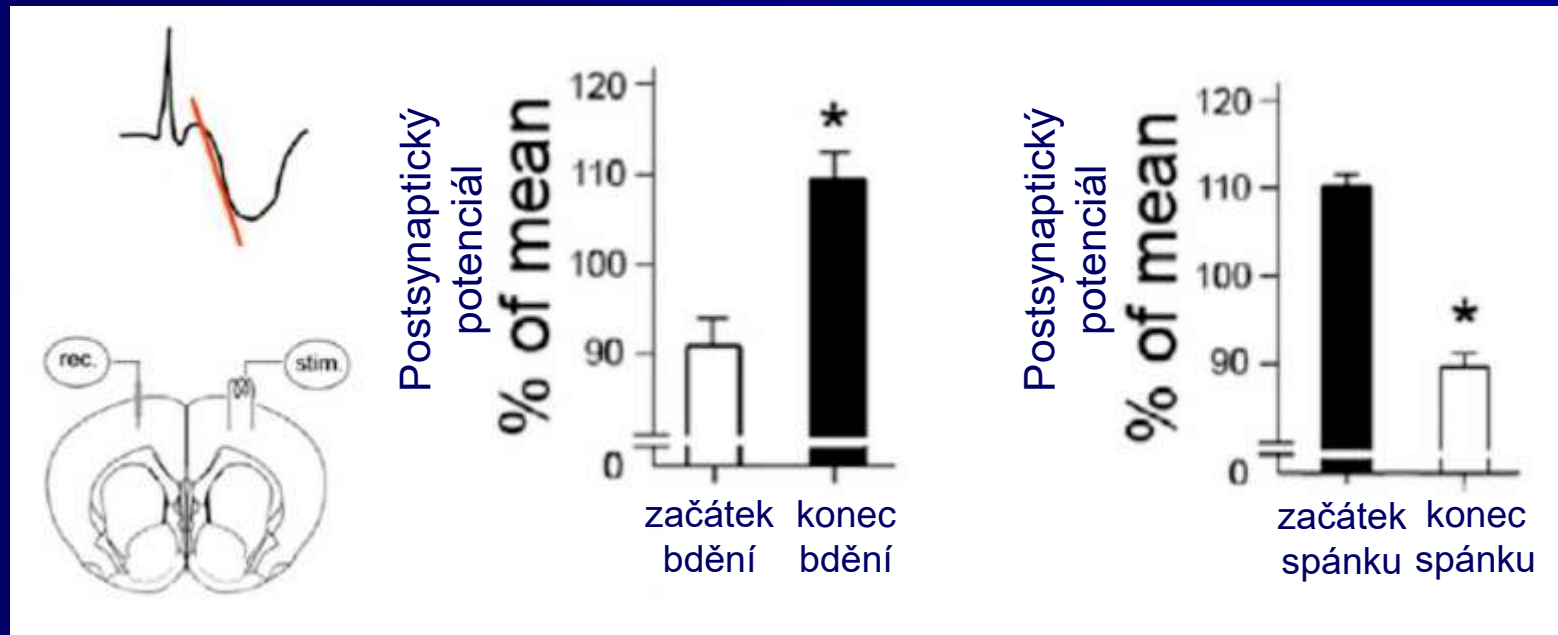
Hypotéza synaptické homeostázy vychází z následující úvahy: Během bdění, když se zvíře učí, dochází k posilování synapsí. Toto posilování synapsí musí být vyváženo synaptickým oslabováním, ke kterému dochází během spánku. Na následujících stránkách si představíme tři pokusy, které testují tuto hypotézu.

(Hypotéza synaptické homeostázy je spojena se jmény Giulio Tononi a Chiara Cirelli z University of Wisconsin, Madison)

Hypotéza synaptické homeostázy



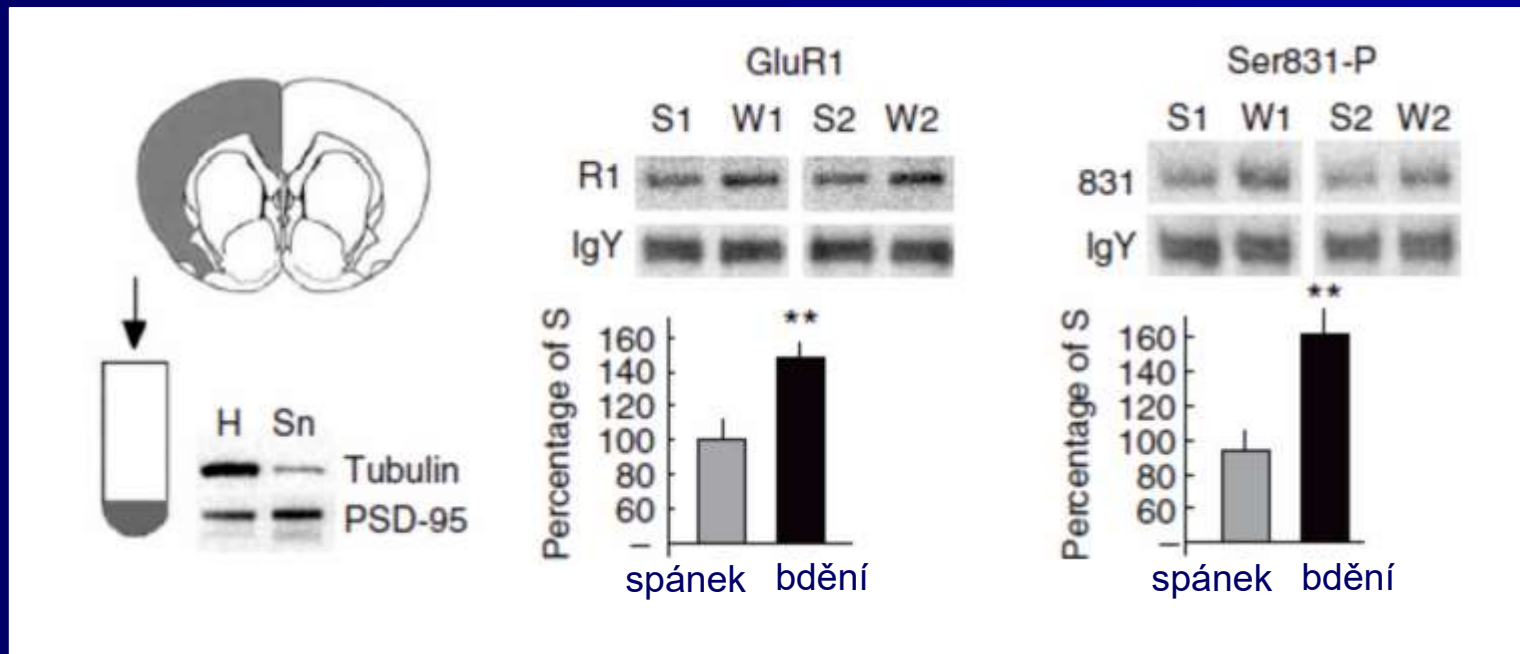
Stimulace neuronálních drah (axonů) vede k aktivaci postsynaptických potenciálů v postsynaptických neuronech. Postsynaptické odpovědi narůstají během bdění a klesají během spánku.



Hypotéza synaptické homeostázy

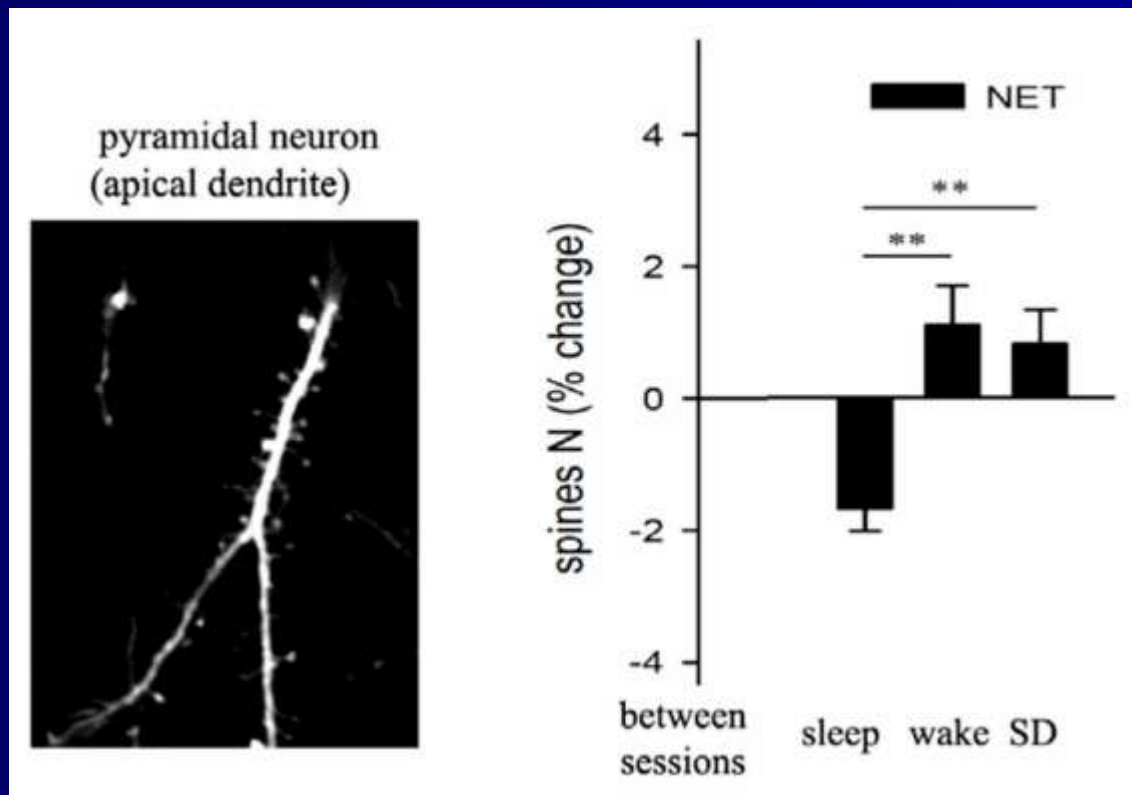


Množství glutamátových AMPA receptorů v postsynaptické membráně koreluje s efektivitou synaptického přenosu (se silou synapse). Exprese a fosforylace AMPA receptorů v synapsích vzrůstá během bdění a klesá ve spánku.



Hypotéza synaptické homeostázy

Množství (hustota) dendritických trnů u kortikálních neuronů klesá během spánku, stoupá během „přirozeného“ bdění i během spánkové deprivace.



Spánek

Plán:

Spánková stadia a spánková architektura

Role spánku při konsolidaci paměti – behaviorální studie

Role spánku při konsolidaci paměti – mechanismy

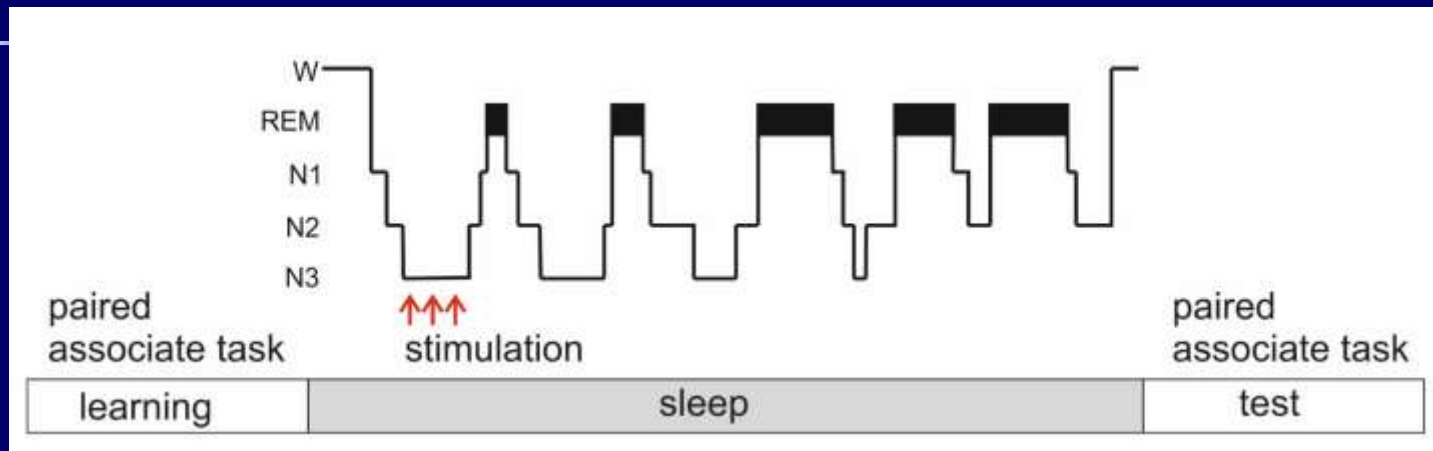
Hypotézy o funkci spánku

Hypotéza aktivní konsolidace

Hypotéza synaptické homeostázy

Manipulace učení během spánku

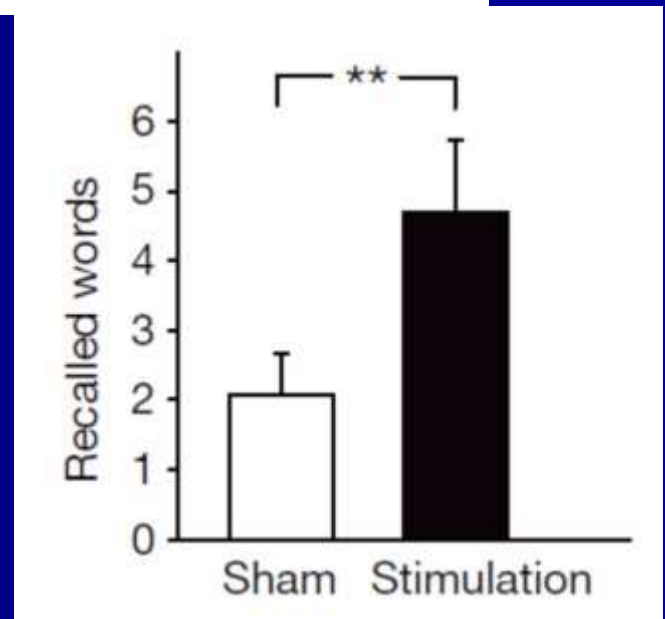
Stimulace frekvencí pomalých vln (0.75 Hz) během spánku zlepšuje konsolidaci deklarativní paměti



V tomto pokusu se lidé učili páry slov. Během následujícího spánku pomalých vln byla aplikována elektrická transkraniální stimulace s frekvencí 0,75 Hz (odpovídá pomalým vlnám).

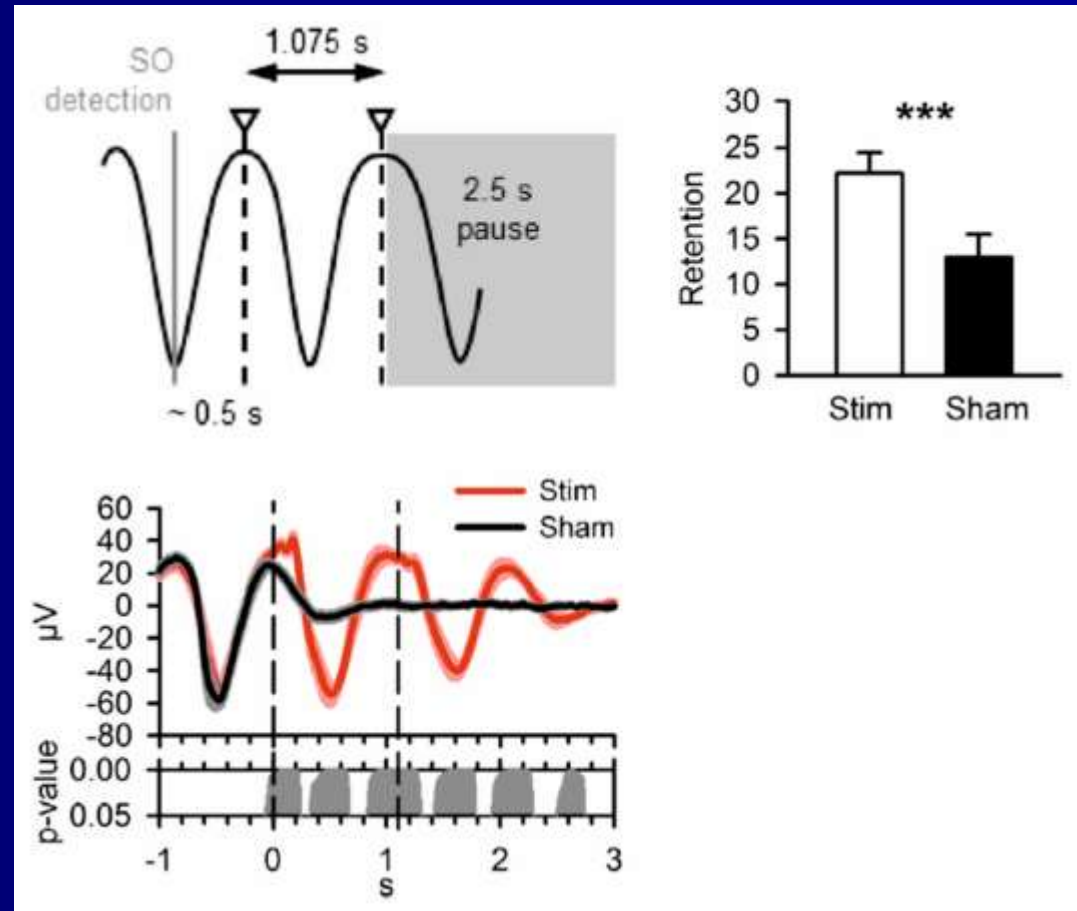
Tato stimulace vedla k lepší konsolidaci naučeného materiálu, která se projevila během následujícího testu (obrázek vpravo).

Elektrická transkraniální stimulace s frekvencí pomalých vln také prodlužuje spánek pomalých vln, posiluje pomalé vlny a zvyšuje množství spánkových vřetének.



Akustická stimulace frekvencí pomalých vln během spánku pomalých vln zlepšuje konsolidaci deklarativní paměti

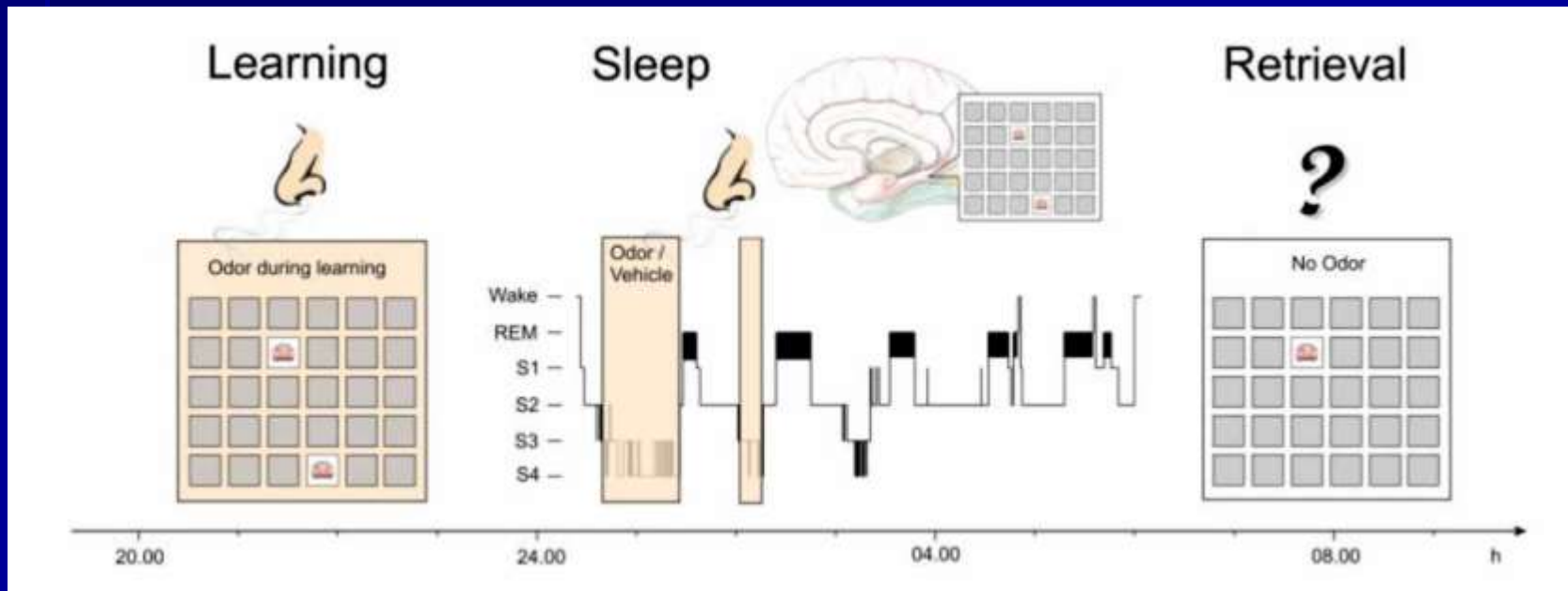
Tento pokus je variací předešlého, lidé se taky učili páry slov. Během následujícího spánku pomalých vln byla aplikována sluchová stimulace, přesně synchronizována s probíhajícími pomalými vlnami. Cílem stimulace bylo posílit a prodloužit pomalé oscilace (červená křivka na obrázku). Tato stimulace také vedla k lepší konsolidaci naučeného materiálu, která se projevila během následujícího testu.



Čichový stimul spojený s učením specificky zlepšuje konsolidaci paměti během spánku

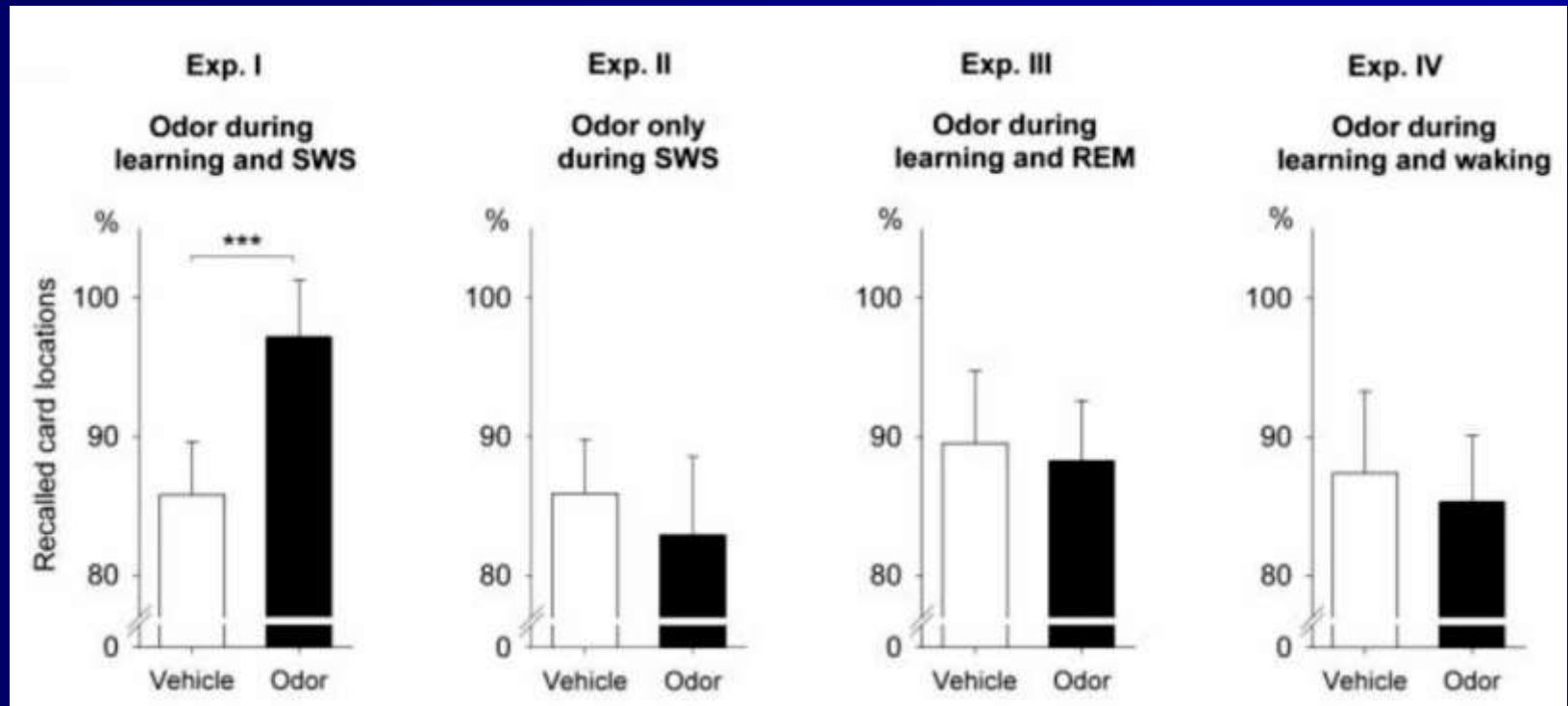
Zatímco v předešlých pokusech vedla stimulace k obecnému posílení pomalých vln, a tím k posílení konsolidace obecně, v následujícím pokuse šlo o posílení jedné konkrétní paměťové stopy.

Lidé se učili variaci hry „pexeso“. Během tréninku byli vystavení vůni (třeba růží), tak aby se vůně asociovala s naučeným materiálem. Během následující noci, v průběhu spánku pomalých vln, byla opět aplikována stejná vůně. Po probuzení byli dobrovolníci testováni v naučeném úkolu.



Čichový stimul spojený s učením specificky zlepšuje konsolidaci paměti během spánku

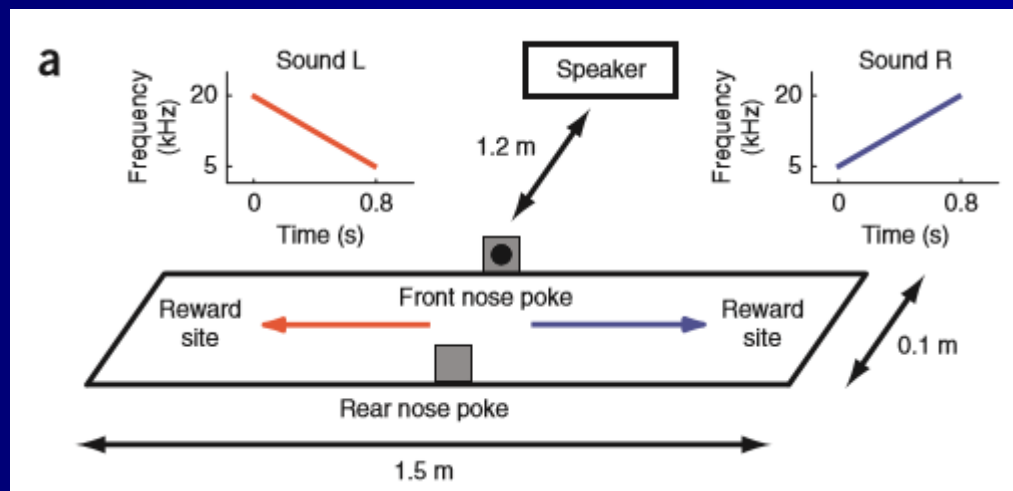
Dobrovolníci, kteří byli vystaveni vůni během učení i během následujícího spánku pomalých vln, si lépe vybavovali naučený materiál. Vůně jenom během spánku pomalých vln, vůně během učení a REM spánku, nebo vůně během učení a následné bdělosti neměla na paměť posilující efekt.



Stimul asociovaný v bdělém stavu s určitou částí prostředí specificky zvyšuje pravděpodobnost přehrávání hipokampální aktivity během spánku.

Tento pokus navazuje na předchozí a klade si podobnou otázku. Jestli lze ovlivnit – posílit – přehrávání specifických neuronálních sekvencí během spánku.

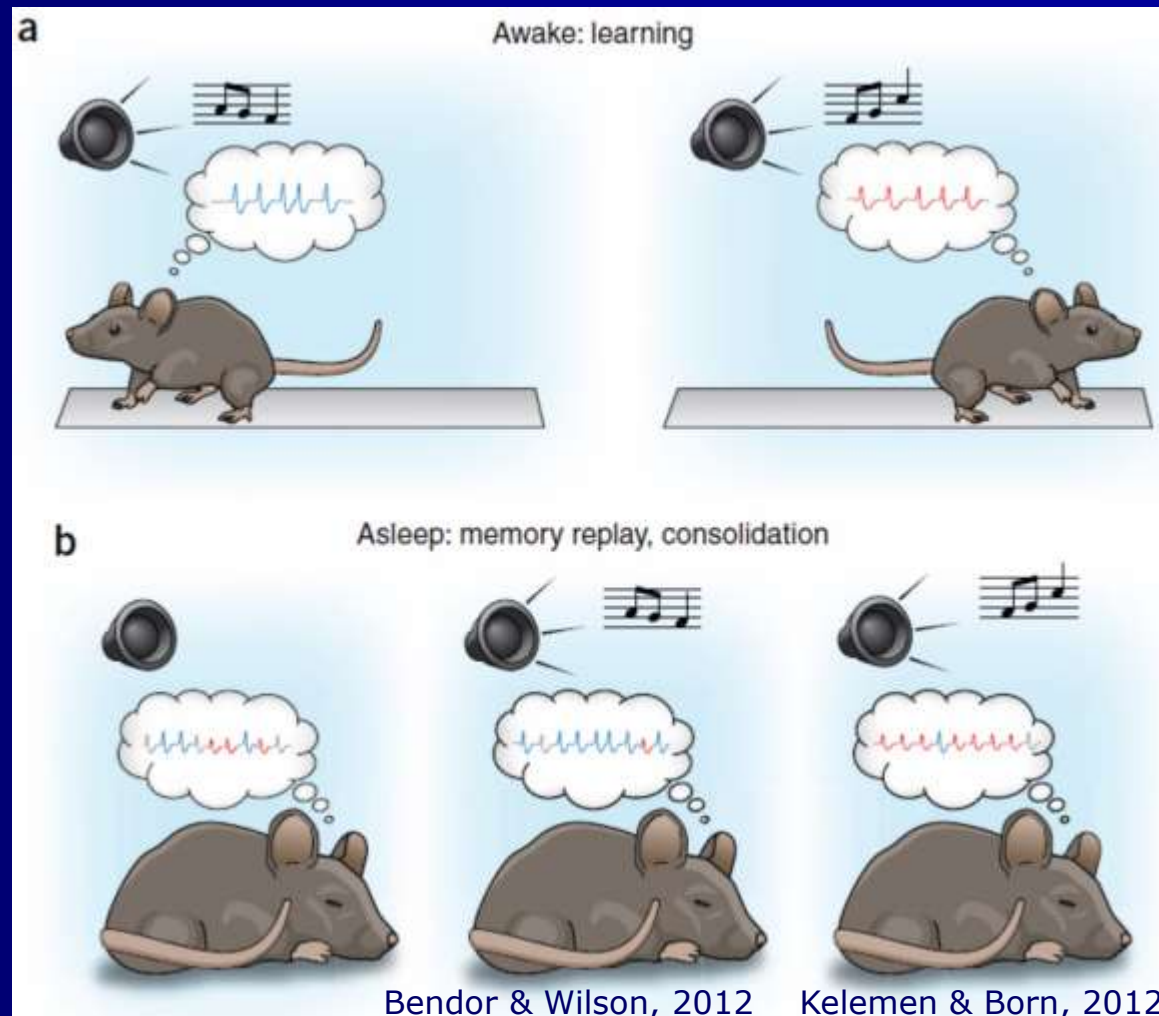
V bdělosti se potkan na lineární platformě učil jednoduchý úkol – po zaznění jednoho zvuku, měl utíkat vlevo, po zaznění jiného zvuku utíkat vpravo. Současně byly v hipokampu nahrávány poziční neurony. Neurony na levé straně platformy byly asociovány s prvním zvukem, neurony na pravé straně s druhým.



Stimul asociovaný v bdělém stavu s určitou částí prostředí specificky zvyšuje pravděpodobnost přehrávání hipokampální aktivity během spánku.

Během následujícího spánku potkanům přehrávali oba zvuky. Během zvuku asociovaného s pravou stranou platformy se přednostně aktivovaly neurony, které v bdělosti pálily na pravé straně. Během zvuku asociovaného s levou stranou platformy se aktivovaly neurony z levé strany.

Přehráváním zvuků asociovanými s jednotlivými částmi arény bylo možno ovlivnit neuronovou aktivitu ve spánku.



Spánek

Shrnutí:

Spánek posiluje konsolidaci paměti a její reorganizaci.

Během spánku dochází k přehrávání neuronální aktivity podle vzorců získaných v bdělosti.

Organizace neuronální aktivity pomocí pomalých vln, spánkových větven a hipokampálních „ripples“ je důležitá pro konsolidaci paměti.

Hlavní hypotézy o kognitivní funkci spánku jsou hypotéza aktivní konsolidace a hypotéza synaptické homeostázy.