

EFEKTI PRODUŽENOG SPAVANJA NA POSPANOST I PSIHOBIOLOŠKE PARAMETRE POSLE JEDNE RADNE NEDELJE BLAGE RESTRIKCIJE SPAVANJA

UVOD

U modernom društvu, sve veći profesionalni zahtevi i promene životnog stila imaju za posledicu da ljudi tokom radne nedelje spavaju značajno kraće od osam sati dnevno, što se smatra neophodnom dužinom spavanja za održavanje optimalnog dnevnog funkcionisanja (1). Iako je uobičajeno verovanje da izgubljeni san akumuliran tokom radne nedelje može da se nadoknadi produženim spavanjem tokom vikenda, nejasno je da li ovo produženo spavanje ("recovery sleep") može na adekvatan način da otkloni štetne efekte deprivacije spavanja ili ljudi ostaju u stanju hroničnog "duga" spavanja. Oporavak od deprivacije spavanja, u smislu produženog spavanja, je nedovoljno istražen, a dostupni podaci se odnose na bihevioralne parametre kao što je psihomotorna performansa, koja izgleda da nije poboljšana posle dva, tri ili četiri dana produženog spavanja (2,3,4). Pored toga, laboratorijske studije koje su uključivale zdrave, mlade ljude dosledno su pokazale da hronična restrikcija spavanja rezultira brojnim abnormalnim fiziološkim promenama uključujući povećanje inflamatornih markera i poremećaj regulacije glukoze u krvi, što ukazuje na potencijalne mehanizme putem kojih hronično skraćeno spavanje može uticati na zdravlje i dugovečnost (5,6,7,8). Iznenadjujući su rezultati nedavne epidemiološke studije koja je pokazala da je najveća stopa preživljavanja prisutna kod žena koje su spavale između 5 i 6 sati dnevno (9). Druga epidemiološka studija ukazala je na to da je rizik od smrti veći kod osoba koje spavaju više od 7.5 sati dnevno nego kod osoba koje spavaju manje od 6.5 sati dnevno (10). Dalje, prvi eksperimenti u kojima se istraživao kompleksan odnos između skraćenog spavanja i gojaznosti pokazali su smanjenu sekreciju leptina, povećanu sekreciju grelina i povećanje apetita posle restrikcije spavanja kod zdravih, mladih muškaraca, ukazujući na potencijalnu medijatorsku ulogu leptina i grelina u pomenutom odnosu (11,12). Međutim, nekoliko narednih studija nije potvrdilo te inicijalne nalaze (13, 14, 15). Jedna od razlika između gore navedenih neusaglašenih studija jeste intenzitet stresa prisutan kod ispitanika tokom eksperimenata. Prema tome, ostaje otvoreno pitanje da li skraćeno spavanje samo po sebi, ili skraćeno spavanje udruženo sa aktivacijom stres sistema, posreduje u procesu efekata deprivacije spavanja na sekreciju leptina i intenziteta gladi. Takođe, ni jedna studija se do sada nije bavila efektima produženog spavanja, nakon blage restrikcije spavanja, na sekreciju leptina, intenzitet gladi i energetske unos.

RADNA HIPOTEZA

1. Blaga restrikcija spavanja, u trajanju od 2 sata dnevno u periodu od 5 dana, kod zdravih, mladih žena i muškaraca, je povezana sa povećanjem pospanosti, opadanjem performanse, nepromenjenom emotivnom dimenzijom raspoloženja i pogoršanjem kognitivnih i somatskih dimenzija raspoloženja.
2. Blaga restrikcija spavanja, u trajanju od 2 sata dnevno u periodu od 5 dana, kod zdravih, mladih žena i muškaraca, je povezana sa povećanom sekrecijom proinflammatoryh citokina [interleukina 6 (IL-6)] i nepromenjenom ili smanjenom sekrecijom krajnjeg produkta neuroendokrine osovine stresa – kortizola.
3. Dva dana produženog spavanja, u trajanju od 10 sati dnevno, otklanjaju promene nivoa pospanosti, performanse, raspoloženja, IL-6 i kortizola izazvane blagom petodnevnom restrikcijom spavanja.
4. Blaga restrikcija spavanja, u trajanju od 2 sata dnevno u periodu od 5 dana, kod zdravih, mladih žena i muškaraca, ne utiče na sekreciju leptina, stepen gladi, apetit i energetski unos.
5. Dva dana produženog spavanja, u trajanju od 10 sati dnevno, ne utiču na sekreciju leptina, stepen gladi, apetit i energetski unos.

CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Ciljevi istraživanja su da se procene efekti dve noći produženog spavanja posle jedne radne nedelje blage restrikcije spavanja na:

1. pospanost merenu objektivnim Testom višestrukog uspavljivanja [Multiple Sleep Latency Test (MSLT)] i subjektivnom Stenfordskom skalom pospanosti [Stanford Sleepiness Scale (SSS)],
2. neurobihejvioralnu performansu merenu Testom psihomotorne viglnosti [Psychomotor Vigilance Task (PVT)],
3. raspoloženje mereno subjektivnim Profilom stanja raspoloženja [Profile of Mood States (POMS)],
4. stepen gladi i apetit mereni subjektivnom Skalom za procenu gladi i apetita,
5. energetski unos izražen u kilokalorijama (kcal),
6. proinflammatoryh citokine (IL-6), neuroendokrinu osovinu stresa (kortizol) i endokrinu regulaciju apetita (leptin).

METODE ISTRAŽIVANJA

I. Ispitanici

Trideset četiri osobe (17 muškaraca i 17 žena), starosti od 20 do 30 godina, normalne telesne težine (Indeks telesne mase (ITM) između 18 i 25) biće regrutovani iz zajednice ili iz Medicinskog Centra Milton Hershey (medicinsko ili tehničko osoblje) ili sa Medicinskog fakulteta Penn State Univerziteta (studenti). Da bi učestvovali u studiji, ispitanici će morati da ispune sledeće uslove: (1) da su zdravi, (2) da ne uzimaju lekove, (3) da su fizički aktivni ali ne previše; konkretno, ispitanici koji trče više od 72 kilometra nedeljno ne mogu učestvovati u studiji zbog potencijalnih efekata preterane fizičke aktivnosti na hipotalamus-hipofiza-nadbubreg (HPA) osovinu, (4) da nemaju žalbi u vezi svog spavanja i poremećaja cirkadijalnog ritma, (5) da tokom dijagnostičke noći (registrovanje i očitavanje spavanja tokom jedne noći u laboratoriji za spavanje, pre uključivanja ispitanika u studiju) ne bude detektovano prisustvo poremećenog disanja u toku spavanja, noćnog mioklonusa i ostalih primarnih poremećaja spavanja, i (6) da vrednosti iz baterije kliničkih testova (uključujući kompletnu krvnu sliku, biohemijsku analizu krvi, funkciju tiroidne žlezde i analizu urina) budu u granicama referentnih, a test na psihoaktivne supstance negativan (16).

II. Protokol

Svaki od ispitanika učestvovaće u eksperimentu restrikcije spavanja koji će trajati trinaest dana. Odgovarajuća dužina spavanja i regularni raspored spavanja biće verifikovani pomoću dnevnika spavanja i aktigrafije tokom dve nedelje pre početka studije. Tokom prve četiri uzastopne noći u laboratoriji za spavanje (jedna adaptaciona i tri bazalne noći), ispitanicima će biti dozvoljeno da spavaju osam sati svake noći (od 23h do 07h). Tokom narednih šest noći (noći restrikcije spavanja), ispitanici će se buditi dva sata ranije (u 05h), nakon čega će biti pušteni iz laboratorije da bi obavljali svoje uobičajene dnevne aktivnosti. Tokom naredne tri noći (noći produženog spavanja) biće im dozvoljeno da spavaju deset sati svake noći (od 23h do 09h).

Petodnevni period restrikcije spavanja i dvodnevni period oporavka je izabran u cilju podražavanja tipičnog rasporeda zaposlenih osoba tokom jedne nedelje (pet radnih dana i dva dana odmora). Tokom eksperimenta, ispitanici neće spavati u toku dana, hraniće se uobičajeno i neće odstupati od svojih regularnih dnevnih rasporeda. Tokom svih trinaest dana eksperimenta, a u cilju provere da li se pridržavaju instrukcije nespavanja tokom dana, ispitanici će nositi aktigraf na zglobov šake nedominantne ruke. Krv će se uzorkovati na sat vremena tokom 24 časa, tri puta tokom eksperimenta: (1) četvrtog dana (poslednji dan bazalnog perioda), (2) desetog dana (nakon perioda restrikcije spavanja), i (3) trinaestog

dana (nakon perioda produženog spavanja). Na taj način će se ispitati profili spavanja ispitanika ne uključujući noći uzorkovanja krvi. Žene će biti uključene u istraživanje tokom folikularne faze menstrualnog ciklusa, što će se verifikovati niskim vrednostima progesterona tokom četvrtog, desetog i trinaestog dana eksperimenta. Intravenska kanila će se plasirati u antekubitalnu venu 30 minuta pre vađenja prvog uzorka krvi. Ubrizgavanjem malih doza heparina omogućiće se stalna prolaznost katetera (ukupna količina heparina neće preći 800 jedinica/24h). Da bi se izbeglo remećenje spavanja tokom perioda registrovanja spavanja, krv će se uzorkovati izvan ispitanikove sobe kroz otvor u zidu uz pomoć dodatne cevi. Tokom dana uzorkovanja krvi, intenzitet pospanosti ispitanika će se meriti objektivnim Testom višestrukog uspavljivanja (MSLT) dok će se neurobihejvioralna performansa meriti Testom psihomotorne vigilanosti (PVT). Pored toga, takođe tokom dana uzorkovanja krvi, meriće se subjektivni nivoi pospanosti, stanja raspoloženja, intenzitet gladi i apetit, kao i energetske unos (kcal). Od ispitanika će se zatražiti da ne menjaju uobičajenu ishranu a vreme njihovih obroka tokom eksperimenta će biti oko 07h, 12h, i 18h. Jačina osvetljenja u sobi u kojoj će se uzorkovati krv u proseku će iznositi oko 800 luksa, a u opsegu od 200 luksa do 1400 luksa (što će se meriti Minolta III F digitalnim aparatom za merenje osvetljenosti, Konica, Minolta, Tokyo, Japan). Protokol istraživanja je odobren od strane Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Penn State Univerziteta. Svaki ispitanik će dati pisanu saglasnost za učestvovanje u istraživanju.

III. Anamneza i lekarski pregled

Svakom ispitaniku će biti uzeta anamneza i imaće klasičan lekarski pregled uz specifične kliničke testove (kompletna krvna slika, biohemijska analiza krvi, funkcija tiroidne žlezde, test na psihoaktivne supstance, analiza urina i elektrokardiogram). Prisustvo psihijatrijskih oboljenja će biti isključeno sprovođenjem psihijatrijskih intervjuua. Antropometrijska merenja će uključiti visinu i težinu.

IV. Registrovanje spavanja

Procena noćnog spavanja

Registrovanje spavanja će se sprovoditi u zvučno izolovanim sobama laboratorije za spavanje, u kojima će se kontrolisati intenzitet osvetljenosti i temperatura. Kod svakog ispitanika kontinuirano će se registrovati elektroencefalogram (EEG), elektrookulogram (EOG), i elektromiogram (EMG) u trajanju od osam sati (od 23h do 07h) tokom prve četiri noći, šest sati (od 23h do 05h) tokom narednih šest noći i deset sati (od 23h do 09h) tokom preostale tri noći. Vreme spavanja u laboratoriji tokom bazalnih noći će biti slično uobičajenom rasporedu spavanja ispitanika. Snimanje polisomnografskih podataka će se obaviti korišćenjem softvera za snimanje i analizu spavanja Grass Telefactor Gamma v. 4.2. Zapisi

spavanja će se zatim vizuelno očitavati, nezavisno od poznavanja eksperimentalnih uslova, a prema standardnim kriterijumima (17). Parametri spavanja koji će se registrovati i procenjivati su: (1) latenca uspavljivanja (minuti) – period budnosti od gašenja svetla do početka spavanja; (2) vreme budnosti posle početka spavanja (minuti); (3) ukupno vreme budnosti (minuti) – zbir latence uspavljivanja i vremena budnosti posle početka spavanja; (4) % vremena spavanja; (5) REM (rapid eye movement – brzi očni pokreti) spavanje (minuti); (5) % REM spavanja; (6) REM latenca - period od početka spavanja do prvog REM perioda (minuti); (7) stadijumi 1, 2, 3 i 4 (minuti); (8) % stadijuma 1, 2, 3 i 4; (9) sporotalasno spavanje [(SWS–slow wave sleep) (minuti) – zbir stadijuma 3 i stadijuma 4]; (10) % sporotalasnog spavanja. Početak spavanja će se određivati na osnovu prisustva bilo kog stadijuma spavanja čija je dužina trajanja minut ili duže. Međutim, da bi se odredio početak spavanja u slučaju stadijuma 1, kao inicijalne faze spavanja, za njim će morati da slede stadijum 2 ili stadijum 3 ili stadijum 4 ili REM spavanje, u trajanju od najmanje 60 sekundi (5).

Aktigrafija

Aktigraf (Actitrac, IM system v. 8.5.5; Actitrac Sleep Algorithm) je sprava koju će pacijenti držati oko zgloba šake nedominantne ruke, a u cilju verifikovanja (a) neadekvatne količine dužine spavanja i (b) neregularnih rasporeda spavanja, i posledičnog isključivanja iz istraživanja pacijenata sa ekstremnim rasporedima ili dužinama spavanja (spavanje tokom dana, ekstremno kratko ukupno vreme spavanja, kašnjenje faze u spavanju – što se odnosi na kasno uspavljivanje u toku noći, itd.) (18). Aktigrafom se može diferencirati spavanje i budnost pomoću količine pokreta u ekstremitetima. Aktigrafija će se koristiti u periodu od dve nedelje pre dijagnostičke noći. Tokom korišćenja aktigrafa ispitanici će popunjavati dnevnik korišćenja aktigrafa tako što će svakog dana upisivati vreme odlaska u krevet, vreme ustajanja iz kreveta ili vreme skidanja sprave (na primer, tokom kupanja ili plivanja). Podaci koji će biti dobijeni aktigrafom su: (a) vreme odlaska na spavanje, i (b) srednja dužina vremena spavanja.

V. Procena dnevne pospanosti, psihomotorne performanse i raspoloženja

Test višestrukog uspavljivanja (Multiple Sleep Latency Test - MSLT)

Merenje latence uspavljivanja tokom kratkih dnevnih perioda spavanja koristi se da bi se detektovala pospanost (19). Intenzitet pospanosti i budnosti će se evaluirati Testom višestrukog uspavljivanja tokom četvrtog, desetog i trinaestog dana eksperimenta (dani uzorkovanja krvi) (19). U našoj studiji, ispitanicima će biti dozvoljeno šest dvadesetominutinih prilika da spavaju i to u 09h, 12h, 15h, 17h, 19h i 21h. Polisomnografija će se koristiti da bi se utvrdilo da li je ispitanik zaspao. Početak spavanja će se definisati kao ulazak u bilo koji stadijum spavanja u trajanju od jedne epohe (30 sekundi) ili duže. MSLT

će se završiti posle 20 minuta nakon gašenja svetla ukoliko ispitanik ne bude zaspao ili posle dve uzastopne epohe stadijum 2 spavanja.

Stenfordska skala pospanosti (Stanford Sleepiness Scale - SSS)

Merenje subjektivne pospanosti će se izvršiti administracijom skale za subjektivno merenje pospanosti - Stenfordske skale pospanosti. Skala se sastoji od sedam hijerarhijsko poređanih rečenica od kojih svaka opisuje određeni stepen budnosti. Ispitanik bira onu rečenicu koja najbliže određuje trenutni stepen njegove budnosti. Ispitanici će popunjavati Stenfordsku skalu pospanosti svakih sat vremena tokom četvrtog, desetog i trinaestog dana (dani uzorkovanja krvi) (20).

Test psihomotorne vigilonosti (Psychomotor Vigilance Task - PVT)

PVT je test neurobihejvioralne budnosti i obuhvata test reakcionog vremena čija je funkcija evaluacija sposobnosti da se održi pažnja i da se blagovremeno reaguje na istaknute signale (21). Studijama je utvrđeno da je učinak na PVT-u veoma senzitivna pokazatelj nivoa neurobihejvioralne budnosti u eksperimentima totalne i delimične deprivacije spavanja (3,5, 21). Osnovne variable koje ćemo meriti su: (1) *frekvencija omaški*, koja se odnosi na broj koji označava koliko puta ispitanik nije uspeo da reaguje na signal ili koliko puta nije blagovremeno reagovao (≥ 500 ms); (2) *dužina domena omaške* koja se odnosi na promene dužine omaški, a izračunava se od 10% najsporijih reakcionih vremena i predstavlja merenje koje odražava usporavanje reagovanja vezanog za stepen budnosti; (3) *optimalna reakciona vremena*, koja predstavljaju prosečnu vrednost 10% najbržih reakcionih vremena prilikom jedne probe; (4) *medijana reakcionog vremena po jednoj probi*. Svako PVT merenje će trajati 10 minuta, a svaki ispitanik će imati priliku da tri puta proba da uradi PVT tokom jednog sata veče pre početka testiranja. Ispitanici će biti testirani uz pomoć PVT-a svakih dva sata u periodu od 08h do 22h četvrtog, desetog i trinaestog dana istraživanja (dani uzorkovanja krvi).

Profil stanja raspoloženja (Profile of Mood States - POMS)

Profil stanja raspoloženja je validovana skala, veoma široko korišćena za identifikaciju i ispitivanje prolaznih, fluktuirajućih afektivnih stanja u istraživanjima spavanja kliničke i opšte populacije. Test predstavlja subjektivnu evaluaciju prisustva različitih emotivnih stanja u datom momentu i njihovog stepena («ni malo», «malo», «umereno», «prilično» ili «ekstremno») (22). Test obuhvata subjektivnu procenu 65 emotivnih stanja grupisanih u šest subskala: (I) napetost-anksioznost; (II) depresija-potištenost; (III) energičnost-aktivnost; (IV) umor-inercija; (V) konfuznost-zbunjenost; i (VI) ljutnja-hostilnost. Testom je moguće odrediti i skor koji označava ukupni poremećaj raspoloženja jednostavnim

sabiranjem T skorova dobijenih na prethodno navedenih 6 subskala raspoloženja, uz obavezno korišćenje negativne vrednosti T skora na subskali energičnost-aktivnost (faktor V) (22). U našoj studiji, ispitanici će popuniti POMS u 16h četvrtog, desetog i trinaestog dana (dani uzorkovanja krvi).

VI. Procena gladi i energetskeg unosa

Skala za procenu stepena gladi i apetita

Stepen gladi i apetit ispitanika će se procenjivati 15 do 30 minuta pre početka svakog obroka (oko 07h, 12h i 18h) tokom četvrtog, desetog i trinaestog dana eksperimenta (dani uzorkovanja krvi). U cilju procene stepena gladi, ispitanici će odgovoriti na pitanje “Koji je stepen vaše gladi u ovom momentu?” tako što će obeležiti jedno mesto na vizuelnoj skali širine 10 cm (sa rečenicom “uopšte nisam gladan/gladna” sa leve strane i “veoma sam gladan/gladna sa desne strane). U cilju procene apetita, ispitanici će odgovoriti na pitanje “Koliko bi uživao/la konzumiranje određene hrane?” (biće ponuđeno 7 različitih kategorija hrane) tako što će obeležiti po jedno mesto na svakoj od 7 različitih vizuelnih skala širine 10 cm (sa leve strane “ni malo” i sa desne strane “veoma”). Oni će dati procenu svog apetita u datom momentu bez uzimanja u obzir koliko bi specifična hrana imala kalorija i masti i da li se može svrstati u zdravu hranu. Kategorije hrane će biti slatkiši; slane namirnice; skrobne namirnice; voće i voćni sokovi; povrće; meso, živina, riba i jaja; i mlečni proizvodi, kao što je opisano u studiji Spiegel i autora (12).

Energetski unos

Svaki ispitanik će moći da izabere svoje obroke sa jelovnika za pacijente Medicinskog centra “Milton Hershey”. Navedeni jelovnik je napravljen u skladu sa Američkim nacionalnim vodičem za ishranu. Kancelarija za ishranu Medicinskog centra “Milton Hershey” će nam dostaviti nutritivnu analizu u kojoj je naznačena kalorijska vrednost svake namirnice sa jelovnika, kao i količina holesterola, proteina, masti i soli koja je sadržana u svakoj od namirnica. Ispitanici će beležiti količinu i vrstu svake namirnice koju su konzumirali tokom eksperimenta. Energetski unos će biti izračunat korišćenjem navedenih informacija.

VII. Analiza hormona i citokina

Uzorkovanje krvi na svakih 60 minuta će početi u 07h i završiće se u 07h sledećeg jutra tokom četvrtog, desetog i trinaestog dana eksperimenta. Ukupna količina krvi uzorkovana kod svakog od pacijenata neće biti veća od 300 ml/24h. Krv uzorkovana uz pomoć intravenske kanile će se prebaciti u epruvetu koja sadrži EDTA (etilendiamintetraacetatnu kiselinu), a zatim će se čuvati u frižideru do centrifugiranja (najduže 3 sata). Svi uzorci krvi će se centrifugirati 15 minuta na temperaturi od 4 C, a zatim će se do

analize plazma čuvati zamrznuta na temperaturi od -70 C. Nivoi kortizola će se meriti specifičnim radioimunološkim tehnikama, IL-6 ELISA tehnikom (R&D Systems, Minneapolis, MN) i leptina RIA tehnikom (Linco Research, Inc., St. Charles, MO). Donja granica detekcije kortizola će biti 0.7µg/dL, IL-6 0.094 pg/mL i leptina 0.05 ng/ml.

VIII. Statističke analiza prikupljenih podataka

Linearni mešoviti modeli će se koristiti za analizu ponovljenih merenja IL-6, kortizola i leptina. Na taj način će se uzeti u obzir slučajni efekti individualnih razlika između pojedinačnih ispitanika na ispitivane pojave. Grupa (bazično spavanje, restrikcija spavanja i produženo spavanje), vreme merenja, pol i njihove međusobne interakcije će kao fiksni faktori (kategorijalne varijable) biti uključeni u model. Ukoliko model bude statistički značajan, korišćenjem post-hoc testova će se utvrditi koje grupe se međusobno razlikuju. Slična statistička analiza će se koristiti za utvrđivanje efekata produženog spavanja posle blage restrikcije spavanja na pospanost, neurobihejvioralnu performansu, stepen gladi i apetit. U cilju deskripcije korišće se aritmetička sredina i standardna devijacija.

PROCENA KANDIDATA O MOGUĆEM NAUČNOM DOPRINOSU DISERTACIJE

Uprkos činjenici da uobičajeni obrazac spavanja većine profesionalno aktivnih osoba obuhvata restrikciju spavanja tokom radne nedelje i produženo spavanje tokom vikenda, ni jedna studija se nije bavila efektima produženog spavanja na pospanost, vigilnost, raspoloženje, aktivnost inflamatornog i stres sistema i regulaciju apetita nakon jedne radne nedelje blage restrikcije spavanja. Čak i blaga restrikcija spavanja dovodi kako do povećanja pospanosti i umora, i opadanja performanse i koncentracije koje negativno utiču na javnu bezbednost, tako i do povećanja sekrecije proinflamatornih citokina (TNFα i IL-6) koji se smatraju medijatorima patološke ili eksperimentalno izazvane pospanosti i faktorima rizika za infarkt miokarda i skraćenje životnog veka. Prema tome, naše istraživanje bi značajno doprinelo određivanju uticaja produženog spavanja na otklanjanje negativnih efekata hronične restrikcije spavanja na specifične neurobihejvioralne i biološke faktore. Dodatno, ispitivanje efekata blage restrikcije spavanja je važno uzimajući u obzir nedavne epidemiološke studije koje dovode u pitanje mišljenje da je 7 do 8 sati spavanja neophodno za održavanje adekvatnog zdravlja. Takođe, značaj predložene disertacije je u tome što podražava “realan život” i direktno ispituje hipotetičku podelu spavanja na neophodno (sporotalasno) i optimalno (nedelta) spavanje, koja sugerise da nedelta spavanje nije neophodno za održavanje dobrog zdravlja. Konačno, naš eksperiment bi doprineo rasvetljavanju dileme da li je skraćenje spavanja, samo po sebi, ono što moduliše efekte deprivacije spavanja na sekreciju leptina i regulaciju apetita ili je to kombinacija skraćenja spavanja i aktivacije sistema stresa.

LITERATURA:

1. National Sleep Foundation. Sleep in America Poll. 2005. Washington DC. See <http://sleepfoundation.org>.
2. Banks S, Van Dongen HP, Maislin G, et al. Neurobehavioral dynamics following chronic sleep restriction: dose-response effects of one night for recovery. *Sleep*. 2010 ;33:1013-26.
3. Dinges DF, Pack F, Williams K, et al. Cumulative sleepiness, mood disturbance, and psychomotor vigilance performance decrements during a week of sleep restricted to 4-5 hours per night. *Sleep* 1997;20:4: 267-7.
4. Belenky G, Wesensten NJ, Thorne DR, et al. Patterns of performance degradation and restoration during sleep restriction and subsequent recovery: a sleep dose-response study (2003). *J Sleep Res* 2003;12:1-12.
5. Vgontzas AN, Zoumakis E, Bixler EO, et al: Adverse effects of modest sleep restriction on sleepiness, performance, and inflammatory cytokines. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89: 2119-2126.
6. Haack M, Sanchez E, Mullington JM: Elevated inflammatory markers in response to prolonged sleep restriction are associated with increased pain experience in healthy volunteers. *Sleep* 2007;30:1145-1152.
7. Spiegel K, Leproult R, Van Cauter E. Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. *Lancet* 1999;354: 1435-1439.
8. Meier-Ewert HK, Ridker PM, Rifai N, et al. Effect of sleep loss on C-reactive protein, an inflammatory marker of cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:678-83.
9. Kripke DF, Langer RD, Elliott JA, et al. Mortality related to actigraphic long and short sleep. *Sleep Medicine* 2011;12:28-33.
10. Tamakoshi A, Ohno Y. Self-reported sleep duration as a predictor of all-cause mortality: results from the JACC study, Japan. *Sleep* 2004;27:51-54.
11. Spiegel K, Leproult R, L'hermite-Balériaux M, et al. Leptin levels are dependent on sleep duration: relationships with sympathovagal balance, carbohydrate regulation, cortisol, and thyrotropin. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89: 5762-5770.
12. Spiegel K, Tasali E, Penev P, et al. Brief communication: Sleep curtailment in healthy young men is associated with decreased leptin levels, elevated ghrelin levels, and increased hunger and appetite. *Ann Intern Med* 2004;141: 846-850.

13. Pejovic S, Vgontzas AN, Basta M, et al. Leptin and hunger levels in young healthy adults after one night of sleep loss. *J Sleep Res* 2010;19:552-8.
14. Nedeltcheva AV, Kilkus JM, Imperial J, et al. Sleep curtailment is accompanied by increased intake of calories from snacks. *Am J Clin Nutr* 2009;89: 126-133.
15. Simpson NS, Banks S, Dinges DF. Sleep Restriction Is Associated With Increased Morning Plasma Leptin Concentrations, Especially in Women. *Biol Res Nurs* 2010;12:47-53.
16. Luger A, Deuster PA, Kyle SB, et al. Acute hypothalamic-pituitary-adrenal responses to the stress of treadmill exercise. Physiologic adaptations to physical training. *N Engl J Med* 1987;316: 1309-1315.
17. Rechtschaffen A, and Kales A. Manual of Standardized Terminology, Techniques and Scoring System for Sleep Stages of Human Subjects. Los Angeles: UCLA Brain Information Services, 1968.
18. Ancoli-Israel S, Cole R, Alessi C, et al. The role of actigraphy in the study of sleep and circadian rhythms. *Sleep* 2003;3:342-92.
19. Richardson GS, Carskadon MA, Flagg W, et al. Excessive daytime sleepiness in man: multiple sleep latency measurement in narcoleptic and control subjects. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1978;45: 621-627.
20. Hoddes E, Zarcone V, Smythe HR, et al. Quantification of sleepiness: a new approach. *Psychophysiology* 1973;10:431-436.
21. Kribbs NB, Dinges DF 1994 Vigilance decrement and sleepiness. In: Harsh HR, Ogilvie RD, eds. *Sleep onset mechanisms*. Washington DC: American Psychological Association; 113–125
22. McNair DM, Lorr M, Droppleman LF. POMS manual: Profile of mood states. San Diego, California: Educational and Industrial testing Services, 1971.