

# **Univajeen vaikutus mikrogliaihin**

LuK-tutkielma

Turun yliopisto

Bioteknologian laitos

Biokemia

03/2024

Noora Majuri



Keskushermostossa esiintyy hermosolujen lisäksi gliasoluja, jotka kattavat suurimman osan aivojen kaikista soluista. Gliasolut jaetaan neljään eri soluluokkaan ja ne vastaavat keskushermoston normaalista homeostaasista eli tasapainotilasta. Neuroinflammaatioreaktio kertoo keskushermoston homeostaattisen tilan järkkymisestä, mikä saa aikaan mikroglion immunologisen aktivoitumisen. Aktivoitumisen seurauksena mikroglion morfologia muuttuu sekä niiden erilaisten toimintojen avulla osallistutaan homeostaattisen tilan ylläpidon lisäksi myös patologisten tilojen etenemiseen. Mikroglia vuorovaikuttavat aktiivisesti muiden keskushermoston solujen, kuten hermosolujen kanssa vaikuttaen niiden toimintaan. Kyseisen vuorovaikutusta tapahtuu homeostaattisen tilan lisäksi myös patologisissa tiloissa.

Tutkielman tarkoituksena on selvittää unen puutteen vaikutukset mikroglion toimintaan keskushermostossa. Mikroglia osallistuvat unen säätelyyn yhdessä muiden keskushermoston solujen kanssa. Nisäkkäillä uni lasketaan hyvin tärkeäksi prosessiksi ja se on välttämätöntä immuunijärjestelmän normaalin toiminnan kannalta. Unen puutteen seurauksena esiintyvät mikroglion toimintahäiriöt ovat osallisena esimerkiksi useiden patologisten tilojen etenemisessä.

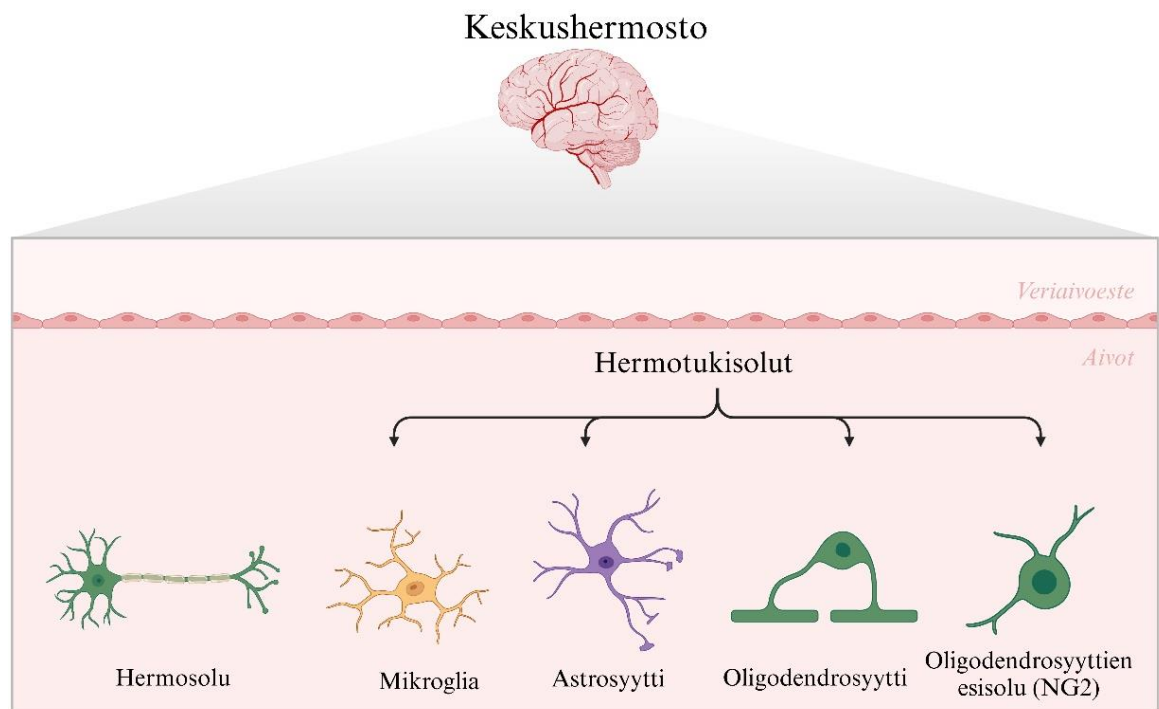
# SISÄLLYS

Sisällys .....	1
1. Johdanto .....	2
2. Mikroglia.....	4
2.2. Mikroglion merkkiaineet.....	4
2.3. Mikroglion esiintyvyys keskushermostossa.....	5
3. Keskushermoston homeostaasi.....	7
4. Neuroinflammaatio.....	8
4.2. Mikroglion aktivoituminen .....	8
5. Mikroglia ja patogeneesi .....	10
6. Uni .....	13
6.2. Unen säätely .....	13
6.3. Uni ja patogeneesi .....	14
6.4. Unen puutteen vaikutus mikroglion määrään ja morfologiaan .....	15
6.5. Unen puutteen vaikutus geeniekspressioon .....	15
6.6. Unen puutteen vaikutus muistiin.....	16
6.7. Unen puutteen vaikutus Alzheimerin tautiin.....	17
7. Yhteenveto.....	20
8. Lähteet .....	21

## 1. Johdanto

Hermotukisolut eli gliasolut (engl. *glial cells*) ovat keskushermostossa esiintyviä hermotukikudoksen soluja, jotka muodostavat suurimman osan keskushermoston soluista nisäkäslajista riippuen (Jäkel ja Dimou 2017). Gliasolut voidaan jakaa neljään pääryhmään: NG2-gliasoluihin, jotka toimivat oligodendrosyyttien esisoluina (engl. *progenitor cell*), myeliinituppea muodostaviin oligodendrosyytteihin, mikroglioihin sekä astroosyytteihin (kuva 1) (Yang ja Zhou 2019).

Ihmisellä gliasoluja on noin 90 % aivojen soluista ja hiirillä 65 % (Allen ja Barres 2009). Lisäksi keskushermostossa esiintyy hermosoluja eli neuroneja, jotka vuorovaikuttavat gliasolujen kanssa (Yang ja Zhou 2019). Hermosolut viestivät sähköisesti aktiopotentialin kautta, mikä erottaa ne toiminnallisesti gliasoluista (Allen ja Barres 2009).



**Kuva 1.** Keskushermoston hermotukisolut eli gliasolut (Yang ja Zhou 2019). Kuva muokattu "Nanoparticles Effects in Central Nervous System", tekijä biorender.com (2024). Haettu osoitteesta <https://app.biorender.com/biorender-templates>.

*In vitro* aktivoituneet makrofagit jaotellaan niiden fenotyyppejensä mukaisesti M1- ja M2-makrofageihin. M1/M2 -jaottelua käytetään myös aktivoituneiden mikroglion kohdalla, jolloin mikroglia jaetaan vastaavalla tavalla "M1- ja M2- kaltaisiin" solumalleihin. Kyseiset solut osallistuvat neuroinflammaatioreaktioiden, eli keskushermoston hermokudostulehduksen kehittymiseen. M1-kaltaiset, klassisella tavalla aktivoituvat

mikroglia toimivat pro-inflammatorisina välittäjinä. (Yang ja Zhou 2019.) M2-kaltaiset mikroglia aktivoituvat vaihtoehtoisella tavalla toimien tulehdusta estävinä ja kudosta korjaavina soluina (Yang ja Zhou 2019) ja ne erittävät anti-inflammatorisia sytokiinejä (Zhao ja muut 2015). M1/M2 -kaltaisten mikroglion lisäksi astrozyytit osallistuvat neuroinflammaatioreaktioihin. Astrozyytit voidaan jakaa niiden reaktiivisuuden mukaan hermosoluille myrkyllisiksi (engl. *neurotoxic*) A1-astroglioneiksi sekä hermosoluja suojaaviksi (engl. *neuroprotective*) A2-astroglioneiksi. (Que ja muut 2023.)

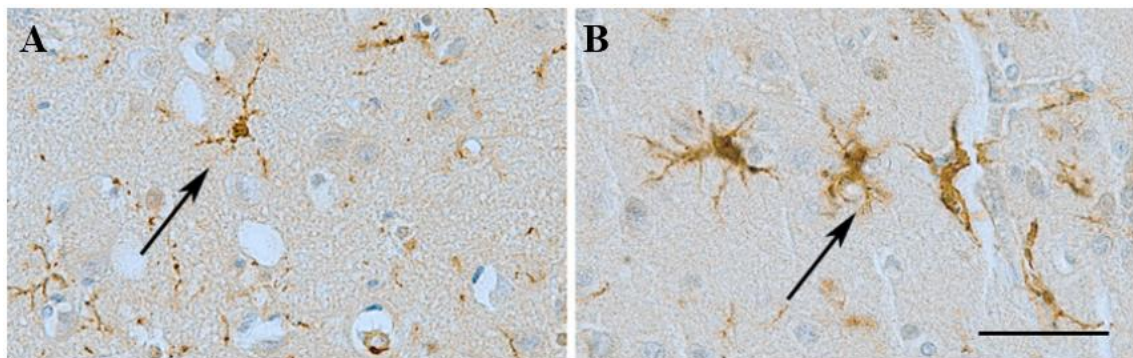
Riittävän unen määrä ja laatu voidaan yhdistää aivojen eri prosessien, kuten plastisuuden ja muistin kannalta edistäväksi tekijäksi. Uni on tärkeää aivojen homeostaasin sekä metabolisten prosessien ylläpidossa, minkä vuoksi unen avulla voidaan arvioida organismin elinkykyä. (Franken ja Dijk 2024.) Lisäksi uni on tärkeää immuunijärjestelmän toiminnalle, ja erilaiset unihäiriöt voivat laukaista tulehdusreaktioita kehossa. Sekä mikroglia että astroglia säätelevät unta ja kummankin solun aktivoitumisella on huomattu olevan yhteys krooniseen unen puutteeseen. (Xiao ja muut 2022.)

Mikroglion ja astrozyyttien monipuoliset toiminnot sekä kummankin solupopulaation vuorovaikutus keskenään esimerkiksi vamman, infektion tai univajeen seurauksena voi johtaa joko kudosten korjaamiseen, tai vastaavasti tulehdusreaktion pahenemiseen (Que ja muut 2023). Tutkielman tarkoituksena on tutkia univajeen vaikutuksia mikroglion sekä selvittää, miten mikroglion toiminnot muuttuvat keskushermostossa univajeen seurauksena.

## 2. Mikroglia

Mikroglia ovat keskushermoston parenkyymissä pysyviä immuunisoluja (Herz ja muut 2017). Mikroglia kuuluvat gliasoluihin, mutta ne saavat alkunsa eri esisolusta. Täten mikroglia lasketaan niin morfologisesti kuin geneettisestikin erilliseksi solutyypiksi. (Yang ja Zhou 2019.) Mikroglia muodostuvat luuytimessä syntyvistä monosyytti-makrofagi- linjan esisolusta, jotka siirtyvät aivoihin alkion kehysvaiheessa (Kim ja De Vellis 2005). Nisäkkäiden keskushermoston kaikista soluista mikroglia kattavat noin 5–10 %, ja ne säilyvät keskushermostossa koko aikuisiän ajan uusiutuen omatoimisesti. (Inoue ja Tsuda 2018).

Mikrogliailla on kaksi keskeistä toiminnallista piirrettä: osallistuminen immuunipuolustukseen sekä keskushermoston homeostaasin, eli tasapainotilan ylläpitäminen (Ginhoux ja Prinz 2015). Nisäkkäiden keskushermostossa mikroglia ovat hyvin monimuotoisia ja esimerkiksi muuttuvan ympäristön vuoksi mikrogliailla on kyky muuntua dynaamisesti solutasolta aina molekyyalitasolle asti (Tan ja muut 2020). Mikroglia muuntavat morfologiaansa ja solukalvolla ilmeneviä antigeenejä ympäristönsä mukaan (Kim ja De Vellis 2005). Normaalitilassa mikrogliaojen morfologia on hyvin haarautunutta sekä niiden solurungot ovat pieniä (kuva 2) (Deurveilher ja muut 2021).



**Kuva 2.** Mikrogliaojen morfologia ihmisen aivoissa iästä tai sairaudesta riippumatta. Mikrogliaojen Iba-1-proteiini (engl. ionized calcium-binding adaptor protein-1) vasta-aine leimattu. (A) Nuolella osoitettuna haarautunut mikrogliaojen morfologia ja pieni solurunko. (B) Nuolella osoitettuna reaktiivinen mikroglia ja suurentunut solurunko. Mittaviiva 50  $\mu\text{m}$ . (Franco-Bocanegra ja muut 2019.) Kuva muokattu lähteestä (Franco-Bocanegra ja muut 2019).

### 2.2 Mikrogliaojen merkkiaineet

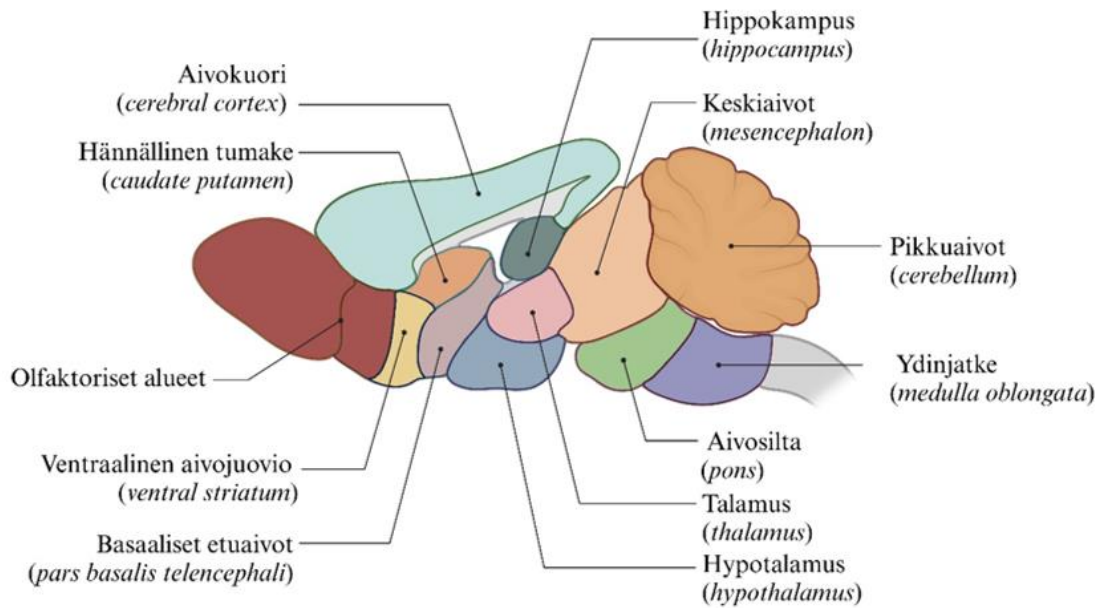
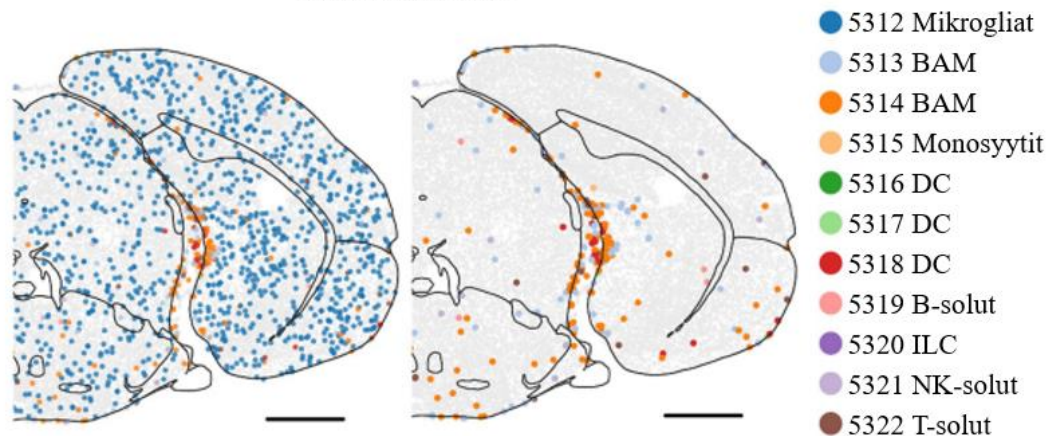
Veri-aivoeste erottaa aivot periferiasta, jolloin keskushermoston solut eroavat muista kudosten soluista esimerkiksi geenien ilmentymisen suhteen (Prinz ja muut 2017).

Mikroglia muodostuvat monosyytti-makrofagi-linjan esisoluista, minkä vuoksi ne ilmentävät kyseisille soluille ominaisia merkkiaineita solukalvolla. Merkkiaineet toimivat reseptoreina tai pinta-antigeeneinä. Merkkiaineita ovat esimerkiksi  $\beta$ 2-integriiniheinin kuuluva CD11b (Kim ja De Vellis 2005), joka on komplementtireseptori 3:n (CR3) alayksikkö (Deurveilher ja muut 2021), IgG:tä sitova Fc $\gamma$ -reseptori (CD64) sekä MHC (engl. *major histocompatibility complex*) -glykoproteiinit. Mikroglia ilmentävät luokan I MHC-glykoproteiinien lisäksi luokan II MHC-glykoproteiineja, jolloin ne voidaan luokitella keskushermoston antigeeniä esitteleviksi soluiksi. (Kim ja De Vellis 2005.)

Monosyytti-makrofagi-solulinjan mukaisesti myös mikroglia ilmentävät kemokiinireseptori CX3CR1:tä (engl. *CX3C-chemokine receptor 1*), mikä sitoo neuronien ilmentämää CX3CL1-ligandia. CX3CR1-signaaloinnin avulla poistetaan kehitysvaiheessa tarpeettomia synapseja ja aikuisiällä se osallistuu keskushermoston suojeleeseen. (Deurveilher ja muut 2021.) Hermosolut ilmentävät CD200:aa, mikä on mikroglion solukalvolla olevan reseptorin, CD200R1:n, ligandi. CD200R1/CD200 vuorovaikutuksen avulla säädellään esimerkiksi mikroglion aktiivisuutta (Yang ja Zhou 2019). Lisäksi kalsiumia sitova proteiini Iba-1 (engl. *ionized calcium-binding adaptor molecule 1*) on mikroglialle ominainen merkkiaine (Xiao ja muut 2022).

### 2.3 Mikroglion esiintyvyys keskushermostossa

Mikroglia esiintyvät ihmisillä ja jyrsijöillä aivoissa hyvin heterogeenisesti (kuva 3), sekä niiden tiheys vaihtelee aivojen eri alueilla. Syy, miksi keskushermosto tarvitsee erilaisia mikroglia-tiheksiä, on kuitenkin yhä epäselvää. Mikroglion tiheys on korkeimmillaan hippokampuksessa, jossa CA1 (engl. *cornu ammonis*) -alueella tiheys on suurempaa kuin CA3-alueella. Lisäksi tiheys on korkea aivokammioita ympäröivien elinten (engl. *circumventricular organs*, CVO) läheisyydessä. Otsalohkon kuorikerroksen (engl. *cortex*), aivojuovion (engl. *striatum*) ja makaavan tumakkeen (engl. *nucleus accumbens*, NAc) alueella mikroglion tiheys on korkean ja keskiverron välillä. Aivojen valkean aineen mikroglia-tiheys on suurempaa kuin harmaan aineen. Mikroglion tiheys on lisäksi korkea tai keskivertoa keskiaivojen talamuksessa ja hypotalamuksessa sekä aivojen mustatumakkeessa (engl. *substantia nigra*). Esiintymistiheys on vähäistä myös taka-aivoihin kuuluvissa pikkuaivojen tumakkeissa (engl. *cerebellar nuclei*). (Tan ja muut 2020.)

**A****Hiiren aivojen anatomia****B****Immuunisolut**

**Kuva 3.** (A) Hiiren aivojen anatomia, sagittaalinen poikkileikkaus (B) Hiiren aivoista koronaalinen poikkileikkaus, jossa spatiaalinen immuunisolujen jakautuminen. Vasemmalla aivot sisältäen mikroglia, oikealla mikroglia poistettu. (BAM (engl. *border-associated macrophages*), reuna-alueiden makrofagit; DC (engl. *dendritic cell*), dendriittisolut; ILC (engl. *innate lymphoid cells*), luontaiset lymfosyytit). (Zhang ja muut 2023.) Kuva A muokattu ”Mouse Brain Anatomy – Sagittal View”, tekijä biorender.com (2024). Haettu osoitteesta <https://app.biorender.com/biorender-templates>. Kuva B muokattu lähteestä (Zhang ja muut 2023).

### 3. Keskushermoston homeostaasi

Synnynnäisen immunitetin tasapainolla on tärkeä merkitys keskushermoston homeostaasin ylläpitoon. Gliasolut vastaavat keskushermoston normaalista homeostaasista ja toimivat ensisijaisena puolustuslinjana keskushermoston kohdatessa terveyttä uhkaavan signaalin. (Yang ja Zhou 2019.) Keskushermon normaalitilassa lepäävät gliasolut kiertävät aktivoitumattomina (Kim ja De Vellis 2005). Lisäksi gliasolut tutkivat ja tarkkailevat jatkuvasti ympäristöään etsien terveyttä uhkaavaa signaalia, kuten erilaisia taudinaiheuttajia tai vaurioituneiden solujen muodostamia varoitusmerkkejä (Ma ja muut 2024).

Mikrogliaat kommunikoivat aktiivisesti muiden solujen kanssa (Inoue ja Tsuda 2018). Ylläpitääkseen homeostaattista tilaa, mikrogliaat ilmentävät homeostaasille tyypillisiä geenejä. Yksi näistä geeneistä koodaa  $G_i$ -proteiinikytkentäistä P2Y<sub>12</sub>-reseptoria, jonka avulla mikrogliaat aistivat sekä säätelevät hermosolujen toimintaa esimerkiksi vaimentamalla (engl. *downregulation*) niiden toimintaa. (Ma ja muut 2024.) Mikrogliaat hallitsevat hermosolujen aktiivisuutta myös negatiivisen takaisinkytkennän avulla (Deurveilher ja muut 2021).

Kommunikoinnin lisäksi mikrogliaat osallistuvat synapsien karsimiseen (engl. *synaptic pruning*) sekä muuntamiseen normaalitilan lisäksi myös patologisissa tiloissa (Jäkel ja Dimou 2017). Ne fagosytoivat ylimääräisiä, apoptoottisia hermosoluja, mutta myös säätelevät niiden eloonjäämistä (Allen ja Lyons 2018). Terveiden aivojen kehitysvaiheessa mikroglion synapsien karsiminen perustuu komplementtikaskadin C1q ja C3 komponentteihin, jotka opsonisoivat fagosytoitavat synapsit (Bellesi ja muut 2017).

Mikroglion lisäksi astrozyytit osallistuvat useisiin aivojen metabolian ja aktiivisuuden kannalta tärkeisiin fysiologisiin tapahtumiin yhdessä hermosolujen kanssa. Astrozyytit osallistuvat hermosolujen aineenvaihduntaan ja ympäristön säätelyyn ionien ja keskushermoston hermovälittäjäaineiden avulla. (Yang ja Zhou 2019.) Astroglion kyky kyky fagosytoida vaurioituneita tai kuolleita soluja sekä solujätettä on lisäksi tärkeässä asemassa aivojen homeostaasin ylläpidossa (Que ja muut 2023).

#### 4. Neuroinflammaatio

Neuroinflammaatioreaktio, eli keskushermoston tulehdustila johtuu keskushermoston synnynnäisen immuunijärjestelmän aktivaatiosta, joka on seurausta useiden gliasolujen yhteistoiminnasta. Neuroinflammaatioreaktio eroaa kuitenkin normaalista, perifeeristen kudosten tulehdusreaktiosta inflammaatioreaktioon osallistuvien solujen ja niiden välisen kommunikaation osalta. (Yang ja Zhou 2019.)

Mikrogliaat vastaavat keskushermoston immuunijärjestelmän normaalista toiminnasta ja aktivaatiosta (engl. *immunocompetent*), eli ne toimivat keskushermoston efektorisoluna (Kim ja De Vellis 2005). Mikä tahansa häiriötila aivojen homeostaasissa aktivoi mikrogliaat (Bellei ja muut 2017). Aktivoituessaan mikrogliaat osallistuvat keskushermoston suojeluun fagosytoimalla hajonnutta kudosta infektion, tulehdusreaktion tai neurodegeneraation, eli hermosolujen tai hermokudoksen rappeutumisen yhteydessä (Kim ja De Vellis 2005), sekä ne tukevat uuden kudoksen muodostumista (Ginhoux ja Prinz 2015).

##### 4.2. Mikrogliaojen aktivoituminen

Patogeeneille tai vauriolle altistuessaan mikrogliaat siirtyvät immunologisesti aktiiviseen tilaan. Aktivoituneen mikrogliaan morfologia muuttuu, jolloin esimerkiksi niiden solurungot kasvavat (Deurveilher ja muut 2021.) Mikrogliaat erittävät keskushermostossa suurimman osan proinflammatorisista tekijöistä, kuten interleukiini (IL)-1 $\beta$ :n, IL-6:n, tuumorinekroositekijä alfa:n (engl. *tumor necrosis factor alfa*, TNF- $\alpha$ ) ja reaktiiviset happiyhdisteet (engl. *reactive oxygen species*, ROS) (Yang ja Zhou 2019).

Solunulkoisen adenosiinitrifosfaatin (ATP) pitoisuus on tärkeässä osassa mikrogliaojen signaloinnin ja toimintojen säätelyssä. Hermosolut sekä oligodendrosyytit voivat vapauttaa suuria määriä ATP:tä mekaanisen vamman aiheuttamana, joka nopeasti hydrolysoituessaan adosiidifosfaatiksi (ADP) muodostaa gradientin aktivoiden hermotukisoluja. ATP/ADP-gradientin aiheuttama mikrogliaojen aktivoituminen tapahtuu metabotrooppisen puriini P2Y<sub>12</sub>-reseptorin ja ionotrooppisen puriini P2X<sub>4</sub>-reseptorin välityksellä. Kyseisten reseptorien aktivoituminen nostaa solunsisäistä Ca<sup>2+</sup>-pitoisuutta. Mikrogliaissa aktivoituu muiden reseptorien lisäksi NLRP3-inflammasomi, joka johtaa pro-inflammatoristen sytokiinien IL-1 $\beta$ , IL-18 ja TNF- $\alpha$  tuotantoon. Lisäksi solunulkoisen ATP-pitoisuuden nousu aktivoi mikrogliaat vapauttamaan typpioksidia, joka edesauttaa inflammaatioreaktion kehittymistä. Kun solunulkoisen ATP:n

välityksellä tapahtuva signalointireitti on käynnistynyt, sitä voidaan lisäksi vahvistaa parakriinisen tai autokriinisen viestinnän avulla (Yang ja Zhou 2019.)

Mikroglion solukalvolla esiintyvät hahmontunnistusreseptorit (engl. *pattern recognition receptors*, PRR) tunnistavat mikrobialisten patogeeneiden pintarakenteiden lisäksi DAMP (engl. *damage-associated molecular patterns*)-molekyylejä, joita vapautuu kudosis- tai soluvaurion yhteydessä. Ihmisten ja jyrsijöiden mikroglia ilmentävät lähes kaikkia PRR:iin kuuluvia TLR:iä (engl. *toll-like receptors*), mutta erityisesti TLR4-reseptoria, joka aktivoituu bakteerien solukalvon lipopolysakkaridin (LPS) lisäksi vaurioituneiden kudosten vapauttamista lämpöshokkiproteiineista (engl. *heat shock protein*) tai kasaantuneista, väärin laskostuneista proteiineista. Tämä johtaa pro-inflammatoristen IL-1 $\beta$ :n, IL-6:n, TNF- $\alpha$ :n ja ROS:n eritykseen. TLR:ien kautta tapahtuva signalointi edistää keskushermoston tulehdusreaktiota. (Yang ja Zhou 2019.) Aktivoituneet mikroglia estävät myös keskushermostossa immuunireaktion etenemistä erittämällä esimerkiksi anti-inflammatorista IL-10 sytokiiniä autokriinisellä viestinvälityksellä (Kim ja De Vellis 2005).

Keskushermoston tulehdusreaktiossa mikroglia erittävät lisäksi neurotrofisia kasvutekijöitä (engl. *neurotrophic survival factors*), kuten hermokasvutekijää (engl. *nerve growth factor*, NGF) ja aivoperäistä hermokasvutekijää (engl. *brain-derived neurotrophic factor*, BDNF) (Kim ja De Vellis 2005).

## 5. Mikroglia ja patogeneesi

Mikroglia ovat keskushermoston liikuntakykyisin ja toiminnaltaan aktiivisin hermotukisolutyyppejä (Yang ja Zhou 2019). Keskushermoston immuunijärjestelmän normaalin toiminnan ja aktivaation lisäksi mikrogliailla on rooli useiden sairauksien etenemisessä ja kehittämisessä (Kim ja De Vellis 2005). Keskushermoston patologisissa tiloissa ne aktivoituvat ennen muita gliasoluja. Astrosyytit aktivoituvat myös inflammatorisista ärsykkeistä, mutta niiden aktivoituminen on kuitenkin passiivisempaa, kuin mikroglia (Yang ja Zhou 2019.)

Alzheimerin tauti on yleisin keskushermostoa rappeuttava, neurodegeneratiivinen sairaus maailmassa, ja samalla yleisin dementian syy. Sitä edistää geneettisten tekijöiden lisäksi myös ympäristötekijät. Alzheimerin tauti jaetaan kahteen eri tautimuotoon: SAD (engl. *sporadic Alzheimer's disease*) ja FAD (engl. *familial Alzheimer's disease*). Tautimuodoista yleisempi on SAD, joka voi aiheutua ympäristötekijöiden, kuten henkisen stressin lisäksi mikrogliaalisten ja astrosyyttisten geenien mutaatioista. (Kaur ja muut 2019.)

Alzheimerin tautia sairastavilla voidaan aivoista löytää kaksi yleisintä tautiin liittyvää rakennetta: solunulkoiset beta-amyloidi (A $\beta$ ) plakit, sekä neuronien sisäiset neurofibrillivyyhdit (engl. *neurofibrillary tangles*) (Katsumoto ja muut 2018). A $\beta$ -peptidit muodostuvat amyloidi prekursori proteiinin (APP) pilkkoutumisesta (Kaur ja muut 2019). Neurofibrillivyyhdit puolestaan muodostuvat tau -proteiinin hyperfosforylaatiosta, jolloin ne laajenevat patologisiksi, suuriksi aggregaateiksi A $\beta$  plakkien edistäessä niiden leviämistä (Katsumoto ja muut 2018.) Sekä A $\beta$  plakit, että neurofibrillivyyhdit ovat molemmat osallisena solukuolemista, sekä hermoston ja neuronien toimintahäiriöiden synnyssä (Kaur ja muut 2019).

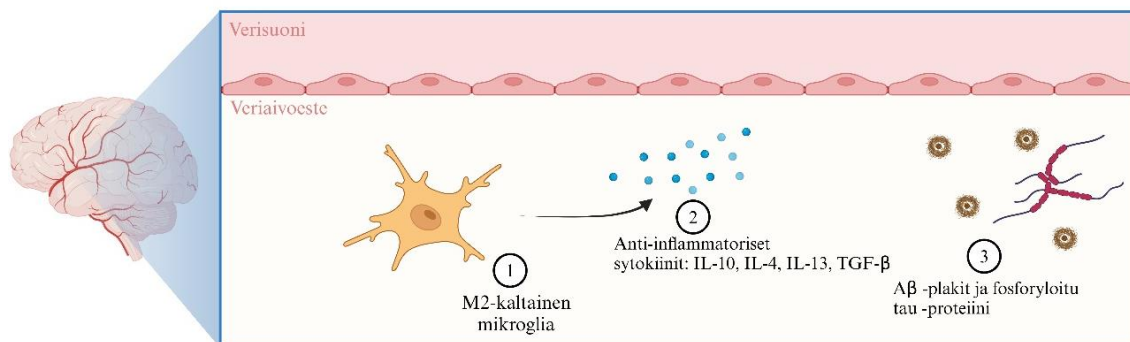
Immuunivasteen muuntamiseen (engl. *immunomodulating*) osallistuva TREM2 (engl. *triggering receptor expressed on myeloid cells 2*) säätelee neurodegeneraatiota. Puuttuvan toiminnan mutaatiot (engl. *loss of function*) TREM2:ssa ovat yhteydessä mikrogliaojen häiriintyneeseen kykyyn tunnistaa ja poistaa patogeenejä. (Parhizkar ja muut 2023.)

TREM2 geenin harvinaisemmat, heterotsygoottiset muodot ovat Alzheimerin taudin suurin riskitekijä. TREM2 on solukalvon läpäisevä reseptori, jonka signaaloinnin kohteena esiintyy eritettävät IL-1 $\beta$  ja TNF- $\alpha$ . (Katsumoto ja muut 2018.) Alzheimerin tautiin on yhdistetty mikrogliaojen aiheuttama neuroinflammaatio, jonka seurauksena eritetään

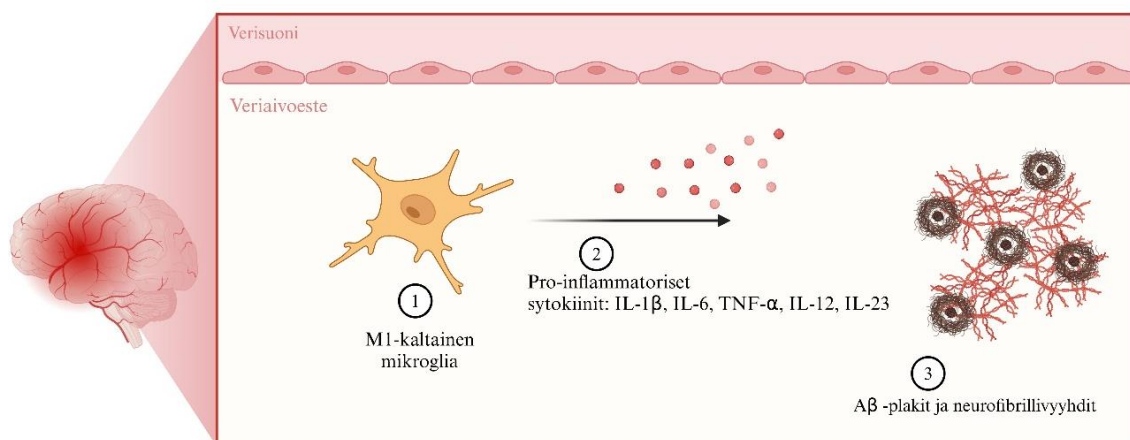
ylimäärin pro-inflammatorisia IL-1 $\beta$ , IL-6 ja TNF- $\alpha$  sytokiinejä (Kaur ja muut 2019). TREM2-reseptorin puute mikrogliailla aiheuttaa muutoksia niiden metaboliassa, mikä ilmenee tehottomana A $\beta$ -plakkien tiivistymisenä ja kapseloitumisena. Tämä johtaa huonontuneeseen aksonien toimintaan sekä mikroglion apoptoitumiseen aktivoitumisen sijasta. (Katsumoto ja muut 2018). Oletettavasti mikroglion reagointi kasautuviin A $\beta$ -plakkeihin ja siitä johtuva sytokiiniheritys on yritys parantua sairaudesta. Pitkittynyt mikroglion reaktiivisuus johtaa krooniseen neuroinflammaatioon, joka voi lopulta edesauttaa neurodegeneraation etenemistä. (Parhizkar ja muut 2023.)

M2-kaltaiset, esimerkiksi anti-inflammatorista IL-10:tä tuottavat mikroglia aktivoituvat Alzheimerin taudin varhaisessa vaiheessa. Taudin alkuvaiheessa pro-inflammatoristen sytokiinien tuotto on estynyt. Pro-inflammatorisia sytokiinejä, kuten IL-6:tta ja TNF- $\alpha$ :aa eritetään taudin myöhemmässä vaiheessa M1-kaltaisten mikroglion aktivoituessa. Aktiivinen tulehdus sekä M1-kaltaisten mikroglion toimintahäiriöt edesauttavat A $\beta$ -plakkien ja neurofibrillivyyhtien muodostumista (kuva 4). (Kaur ja muut 2019.)

## Alzheimerin taudin varhainen vaihe



## Alzheimerin taudin myöhäinen vaihe



**Kuva 4.** M1- ja M2- kaltaisten mikrogliaojen aktivoituminen Alzheimerin taudin eri vaiheissa. M1- kaltaiset mikroglia erittävät pro-inflammatorisia sytokiinejä taudin myöhäisvaiheessa, kun taas M2-kaltaiset mikroglia erittävät anti-inflammatorisia sytokiinejä taudin alkuvaiheessa (Kaur ja muut 2019.) Kuva muokattu ”Fibrinogen-Activated Microglia Contribute to Tissue Damage in Multiple Sclerosis”, tekijä biorender.com (2024). Haettu osoitteesta <https://app.biorender.com/biorender-templates>.

Ääreishermon vauriosta johtuva neuropaattinen kipu on yhdistetty aktivoituneisiin mikrogliaoihin. Aktivoitumisen seurauksena mikrogliaojen solukalvolla lisääntyy CR3:n määrä. (Huang ja muut 2014.) Lisäksi noin 40:n mikrogliaojelle ominaisten molekyylien, kuten P2Y12:a, TREM2:n sekä säätely tehostuu ääreishermovaurion jälkeen. Mikroglia ovatkin yksi keskeisimmistä solutyypeistä neuropaattisen kivun patogeneesissä. (Inoue ja Tsuda 2018.)

## 6. Uni

Uni on hyvin monimutkainen ja dynaaminen prosessi. Nisäkkäillä uni ja sen vaiheet voidaan jakaa erilaisten toimintojen perusteella kahteen vaiheeseen: perusuneen eli NREM-uneen (engl. *non-rapid eye movement*) sekä vilkeuneen eli REM-uneen (engl. *rapid eye movement*). Hereilläöolo lasketaan erilliseksi vaiheeksi, mikä jyrsijöillä jaetaan aktiiviseen ja hiljaiseen hereilläöoloon. (Franken ja Dijk 2024.)

REM-uni voidaan jakaa edelleen kahteen eri vaiheeseen: vaiheittaiseen REM-uneen ja vahvistavaan REM-uneen. NREM-unen pituus vaihtelee lajista riippuen. Ihmisillä NREM-uni jaetaan kolmeen eri vaiheeseen: N1, N2 ja N3. Jyrsijöillä NREM-unesta puhutaan hidasaaltounena (engl. *slow wave sleep*, SWS), joka viittaa NREM-unen kaikkiin eri vaiheisiin. Ihmisillä SWS viittaa kuitenkin vain NREM-unen viimeiseen N3-vaiheeseen. Lisäksi NREM- ja REM-unisyklit vaihtuvat lajikohtaisesti. Ihmisillä pääuniaika on yöllä, kun taas jyrsijöillä päiväsaikaan. NREM-unen määrä ihmisillä on kolminkertainen verrattuna REM-uneen, rotilla vastaava määrä on nelinkertainen, ja hiirillä jopa seitsenkertainen. (Franken ja Dijk 2024.)

### 6.2. Unen säätely

Immuunijärjestelmän toiminnan kannalta riittävä uni on välttämätöntä. Univaje voi häiritä immuunijärjestelmän toimintaa ja siten laukaista tulehdusta edistäviä prosesseja. Mikroglia sekä astrosyytit ovat keskushermoston neuroinflammaatioreaktioiden säätelyn lisäksi vastuussa myös uni-valverytmistä. (Xiao ja muut 2022.)

Astrosyytit toimivat pääasiassa vapauttamalla ATP:n metaboliittia adenosiniä solunulkoiseen tilaan. Adenosini sitoutuu hermosolujen solukalvon G-proteiinikytkentäisiin A1-, A2- ja A3-reseptoreihin, jolloin ne joko estävät syklisen adosiniinimonofosfaatin (cAMP) konsentraatiota ja siten vaimentavat hermosolujen toimintaa, tai aktivoivat cAMP-signaaloinnin vahvistaen hermosolujen toimintaa. Kyseisten reseptorien avulla säädellään unta sekä hereilläöoloa. (Xiao ja muut 2022.)

Mikroglion solukalvon G<sub>i</sub>-kytkentäinen P2Y<sub>12</sub>-reseptori sekä sen aktivoivat ligandit, kuten ATP, ADP sekä adenosini osallistuvat unen säätelyyn edistäen NREM-unta. P2Y<sub>12</sub>-G<sub>i</sub>-signaaloinnin aktivoitumista säädellään ainakin osittain mikroglion solunsisäisellä Ca<sup>2+</sup>-signaaloinnilla. (Ma ja muut 2024.) Lisäksi tämän reseptorin aktivoituminen edelleen lisää solunsisäistä Ca<sup>2+</sup>-pitoisuutta (Yang ja Zhou 2019) sekä vähentää norepinerfiinin transmissiota. (Ma ja muut 2024.) Norepinerfiini on hereilläöoloa

edistävä neuromodulaattori, jota syntyy pääasiassa aivorungon sinitumakkeen (engl. *locus coeruleus*) hermosoluissa. Mikroglia pystyvät kataboloimaan ATP:n sekä ADP:n adenosiiniksi, joka estää norepinefriinin vapautumista. Mikroglion P2Y<sub>12</sub>-G<sub>i</sub>-signaaloinnin aktivoituminen estää norepinefriinin transmissiota, jota säädellään ainakin osittain lisäämällä adenosiinin määrää. (Ma ja muut 2024.) Myös astrocytytit voivat edistää NREM-unta. Astrocytytit eroavat kuitenkin mikrogliaista siinä, että niiden Ca<sup>2+</sup>-aktiivisuus on suurempaa hereillä ollessa sekä norepinefriini edistää astrocytyttien Ca<sup>2+</sup>-aktiivisuutta. (Ma ja muut 2024.)

Ca<sup>2+</sup>-signaaloinnin lisäksi myös TNF- $\alpha$ :n avulla säädellään unta (Xiao ja muut 2022). Mikroglia erittävät suurimman osan pro-inflammatorisesta TNF- $\alpha$ -sytokiiniestä keskushermostossa (Kim ja De Vellis 2005) ja sen vapautuminen on Ca<sup>2+</sup>-riippuvaista (Ma ja muut 2024). Mikroglion lisäksi myös astrocytytit erittävät TNF- $\alpha$  sytokiiniä (Kim ja De Vellis 2005), mutta Lee työryhmineen (2000) kuitenkin osoittivat, että LPS:llä käsitellyt mikroglia erittivät TNF- $\alpha$ -sytokiiniä kymmenkertaisen määrän verrattuna IL-1 $\beta$ :llä käsiteltyihin astrocytytteihin. (Kim ja De Vellis 2005).

### 6.3. Uni ja patogeneesi

Immuunijärjestelmän toimintahäiriöiden riskitekijöinä on unen huono laatu, sekä määrä (Wisor ja muut 2011). Unen puutteella tarkoitetaan pitkittynyttä aikaa, jolloin unen määrä on riittämätön (Que ja muut 2023). Unen puute vaikuttaa mikrogliaihin, astrocytytteihin sekä hermosoluihin (Franken ja Dijk 2024). Lisäksi raskauden aikaiset unihäiriöt sekä unen puute lisäävät stressiä, jolla on vahingollisia vaikutuksia jälkeläiseen (Zhao ja muut 2015). Akuutti ja krooninen univaje aktivoi gliasoluja, mikä johtaa pro-inflammatoristen sytokiinien tuottoon (Bellesi ja muut 2017). Unen puutteen vaikutukset keskushermostossa voidaan yhdistää erilaisiin mikroglion toimintahäiriöihin (Wisor ja muut 2011).

Mikroglion toimintahäiriöt sekä unen puute ovat osallisina neurogeneratiivisiin sairauksiin (Ma ja muut 2024). Univaje on yhdistetty ikääntyvällä väestöllä kognitiivisuuden heikkenemiseen, mikä on yksi Alzheimerin taudin riskitekijä (Parhizkar ja muut 2023). Hippokampus sekä sen CA1-alue ovat haavoittuvaisessa asemassa Alzheimerin taudissa A $\beta$ -sakkautumisen vuoksi (Owen ja muut 2021). Taudin etenemiseen vaikuttavat lisäksi sekä NREM-uni, että REM-uni (Liu ja muut 2023).

Gliasolujen aktivoituminen posttraumaattisesti keskushermostossa vaikuttaa hermosolujen muovautuvuuteen sekä herkistymiseen, joka voi johtaa neuropaattiseen

kipuun. Univaje ja erilaiset unen häiriöt on yhdistetty heikentyneeseen kivun sietoon terveillä ihmisillä sekä kroonisesta kivusta kärsivillä henkilöillä. Lisäksi krooninen kipu itsessään aiheuttaa unen puutetta. Rottakokeilla on huomattu, että mikrogliojen aktivoituminen univajeen jälkeen johtaa lopulta neuropaattisen kivun pahenemiseen. (Huang ja muut 2014.)

#### 6.4. Unen puutteen vaikutus mikrogliojen määrään ja morfologiaan

Immunologisesti aktivoitujen mikrogliojen morfologia muuttuu aktivoitumisen seurauksena, jolloin esimerkiksi niiden solurungot kasvavat normaaliin tilaan verrattuna (Deurveilher ja muut 2021). Lisäksi mikrogliojen toimintahäiriöissä dystrofisten mikrogliojen morfologia muuttuu pallomaiseksi sekä rikkonaiseksi (Owen ja muut 2021).

Hiirikokeilla on löydetty mikrogliojen morfologiassa muutoksia 48 tunnin kokonaisunihäiriön (NREM- ja REM-uni) ja REM-unihäiriön jälkeen. Täysi-ikäisten hiirten hippokampuksessa mikrogliojen numeerinen määrä ei niinkään muutu (Liu ja muut 2023; Tuan ja Lee 2019), mutta huomattavia muutoksia esiintyy mikrogliojen ulokkeiden (engl. *extremities*) määrässä ja pituudessa. 48 tunnin kokonaisunihäiriön jälkeen mikrogliojen ulokkeiden määrä kasvaa sekä ulokkeiden pituudet lyhenevät huomattavasti. Tämä ero huomattiin sekä uros- että naarashiirillä. (Liu ja muut 2023.) Vastaavaa ulokkeiden pituuden alenemaa aikuisilla hiirillä tapahtuu myös 72 tunnin univajeen jälkeen. Koska homeostaattisessa tilassa mikrogliaat ovat enemmän haarauneita, univaje muuttaa mikrogliojen morfologian aktivoituneeseen muotoon. (Tuan ja Lee 2019.)

Vaikka lyhytkestoisen univajeen jälkeen mikrogliojen numeerinen määrä ei muutu (Liu ja muut 2023), niin krooninen lyhytuni (engl. *chronic short sleep*, CSS) aiheuttaa muutoksia aivoissa vuoden jälkeen. Sekä uros- että naaraspuolisten hiirten hippokampuksen CA1- alueella Iba-1- ja CD68-positiivisten mikrogliojen määrä kasvaa voimakkaasti. Määrän kasvun lisäksi mikrogliojen solurungot ovat laajentuneet, sekä niiden ympärillä on havaittavissa solurakkulamutoksia. (Owen ja muut 2021.)

#### 6.5. Unen puutteen vaikutus geeniekspressioon

Lähetä-RNA:n (mRNA) ja proteiinien määrä muuttuu univajeen vaikutuksesta. 48 tunnin kokonaisunihäiriön ja REM-unihäiriön jälkeen mikrogliojen aktivoitumiseen liittyvien CD68-, CD40- ja IRF7-proteiinien, sekä komplementti C3:n ilmentyminen kasvoi huomattavasti sekä uros-, että naaraspuolisten hiirien hippokampuksessa. Solujen

jakautumisesta kertovan CSF2RA-proteiinin ilmenemisessä ei tapahdu kuitenkaan muutosta REM-univajeen aikana. Tästä voidaan päätellä, että 48 tunnin univaje saa mikroglia aktivoitumaan, mutta niiden solumäärä ei lisäänty. (Liu ja muut 2023.)

Komplementin C3-komponentin määrän kasvu kertoo komplementin aktivoitumisesta. Mikroglia sitoutuvat C3:een, minkä seurauksena ne fagosytoivat synapseja. Univajeen seurauksena myös hermosolujen synapsien tiheydestä kertovan ja solukalvon läpäisevän glykoproteiinin, synaptofysiinin, määrä laskee. Hermosolujen synapsien katoaminen voi johtua univajeen jälkeen aktivoituneista mikrogliaista. (Liu ja muut 2023.)

Aktivoitujen mikroglia CR3:n säätely ja ilmeneminen lisääntyy myös neuropaattisessa kivussa. CCI (engl. *chronic constriction injury*)-koe-eläinmalleja hyödynnettäessä nucleus cuneatessa (CN) mikroglia aktivoituvat kättä hermottavan keskihermon vaurioitumisen yhteydessä. Urospuolisilla CCI-rotilla kolmen päivän univaje lisää immunoreaktiivisten OX-42 monoklonalisella vasta-aineella leimattujen CR3:n määrää ipsilateraalissa CN:ssä. Tämä kertoo mikroglia aktivoitumisesta, joka on yhteydessä neuropaattisen kivun etenemisessä. (Huang ja muut 2014.)

#### 6.6. Unen puutteen vaikutus muistiin

Uni on välttämätön prosessi nisäkkäillä ja se on yhdistetty useisiin kognitiivisiin tapahtumasarjoihin, kuten muistin vahvistamiseen (Que ja muut 2023). Muistin heikkeneminen sekä käytöshäiriöt ovat seurausta univajeesta (Parhizkar ja muut 2023). Spatiaalisen, eli tilallisen muistin ja informaation käsittelylle on edellytyksenä toiminnallinen hippokampus (Zhao ja muut 2015).

Akuutin univajeen jälkeisen korvausunen (engl. *recovery sleep*) aikana mikroglia pitävät yllä synaptista homeostaasia. Lisäksi mikroglia ovat tärkeässä roolissa muistin muodostumisessa ja vahvistamisessa, sillä mikroglia-populaatioiden poistaminen hiirien keskushermostosta aiheuttaa alentuneen kyvyn vakaannuttaa muistia. (Gentry ja muut 2022).

Hippokampuksen CA3-alue on yhdistetty kontekstuaaliseen muistiin. Mikroglia-peräiset signaalit voivat olla tärkeitä hermosolujen dendriittisten piikkien (engl. *dendritic spine*) kypsymiselle. Hermosolujen dendriittisten piikkien kypsä ja kehittynyt ”sienimäinen” morfologia vahvistaa pitkäkestoista muistia, kun taas ohut morfologia viittaa epäkypsään muotoon. Hiirillä mikroglia poistaminen aivoista aiheuttaa CA3-alueen hermosolujen dendriittisten piikkien tiheyden sekä ”sienimäisen” morfologian vähenemistä akuutin, 6

tunnin univajeen jälkeen. Lyhyempikestoisen univajeen aikaiset mikrogliojen toiminnot voivat kuitenkin muuttua pidempikestoisen univajeen aikana. (Gentry ja muut 2022.)

Jyrsijöillä spatiaalista muistia voidaan tutkia esimerkiksi MWM (engl. *Morris water maze*) -kokeella, jossa tiettyyn kohtaan vesiallasta piilotetaan koroke. Ennen kokeen suorittamista jyrsijät käyvät läpi oppimisjakson vesialtaassa korokkeen kanssa. Varsinaisessa kokeessa koroke poistetaan ja koe-eläimen kykyä muistaa piilotetun korokkeen sijainti analysoidaan tietty ajanjakso. Liu työryhmineen (2023) huomasi 48 tunnin kokonaisunivajeen sekä REM-univajeen heikentävän hiirten spatiaalista muistia. Univajeiden jälkeen mikrogliojen aktiivisuustasot viittaavat siihen, että REM-uni voi olla tärkeässä osassa mikrogliojen aktivaatiossa (Liu ja muut 2023).

### 6.7. Unen puutteen vaikutus Alzheimerin tautiin

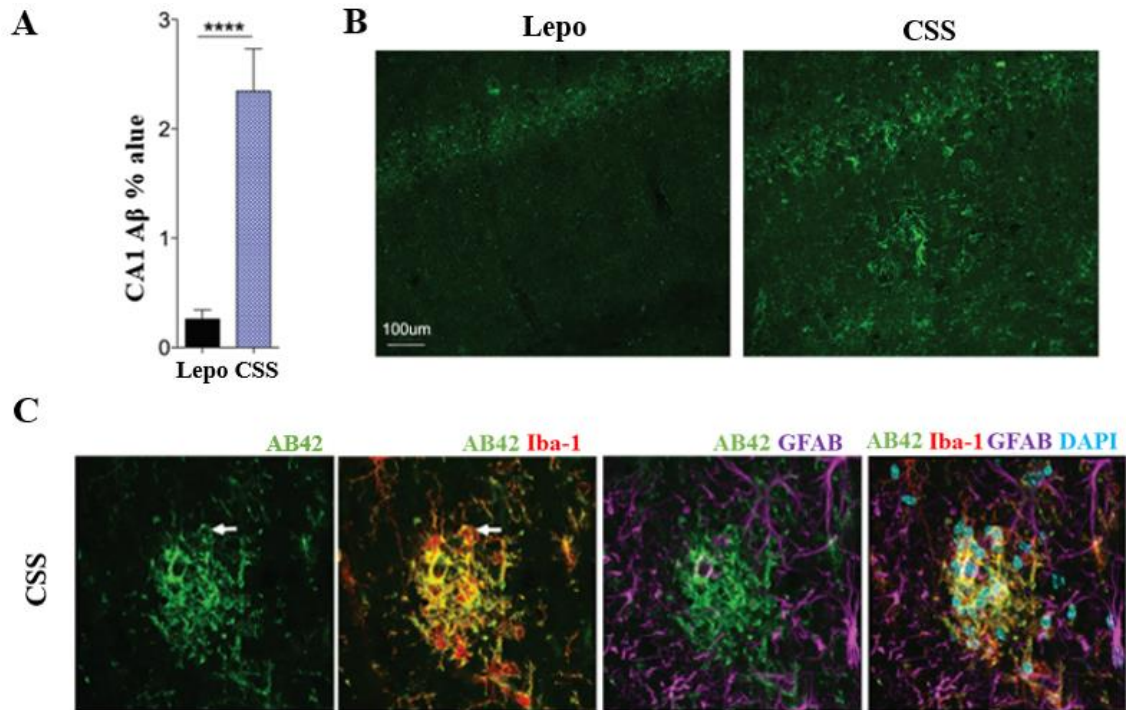
Unen puute voi häiritä solujen aineenvaihduntaa, mikä voi johtaa tiettyjen substraattien kasautumiseen ja niiden proteolyttisen hajotuksen vähenemiseen (Parhizkar ja muut 2023). Unen puute nostaa A $\beta$ -plakkien saostumista, kun taas vastaavasti uni edistää liukoisen A $\beta$  raivaamista (Katsumoto ja muut 2018).

Mikrogliaat ovat kriittisessä osassa sekä liukoisen, että liukenemattoman A $\beta$ :n poistamisessa aivoista. 48 tunnin REM-univajeen jälkeen sekä uros-, että naaraspuolisten hiirten hippokampuksessa liukoisen A $\beta$ :n määrä kasvaa. Liukoisen A $\beta$ :n kasvu on vielä korkeampaa kokonaisunivajeen jälkeen, mikä viittaa mikrogliojen huonontuneeseen fagosytoosikykyyn. (Liu ja muut 2023.)

CD68-positiivisten mikrogliojen määrän kasvu aivoissa kertoo fagosytoosin sekä lysosomaalisen aktiivisuuden tehostumisesta. Kroonisen univajeen jälkeen mikrogliaat kykenevät fagosytoimaan A $\beta$ -plakkeja, mutta sisään otettu materiaali kasaantuu lysosomeihin. Lysosomien sisältämien hydrolaasien, kuten katepsiini B:n ja D:n määrä vähenee univajeen jälkeen, mikä viittaa lysosomien heikentyneeseen entsyymaattiseen aktiivisuuteen. Univaje lisäksi heikentää autofagosomien sulautumista yhteen lysosomien kanssa. Lysosomien sisälle kertyvät A $\beta$ -plakit sekä heikosti muodostuneet autolysosomit heikentävät mikrogliojen toimintakykyä entisestään ja aiheuttavat siten aineenvaihdunnallista stressiä. (Parhizkar ja muut 2023.)

Univajeen vaikutus Alzheimerin tautiin voi olla pitkäkestoista (Owen ja muut 2021). Owen työryhmineen (2021) huomasivat hiirillä Iba-1-positiivisten mikrogliojen kerääntyvän samalle alueelle kuin A $\beta$  CSS -altistuksen jälkeen hippokampuksen CA1-

alueella. Astrosyytit puuttuivat kerääntymistä kokonaan ja niitä ilmeni ainoastaan Iba-1-positiivisten mikroglion, sekä A $\beta$ :n ympäröivillä alueilla (kuva 5). CSS-altistuksen jälkeen kasvaneet solunulkoiset A $\beta$ -pitoisuudet viittaavat pitkäkestoiseen homeostaasin sekä mikroglion toimintahäiriöihin. (Owen ja muut 2021.)



**Kuva 5.** Hippokampuksen CA1-alueen amyloidi-betan (A $\beta$ ) määrän lisääntyminen ja mikroglion paikantuminen vuoden jälkeen kroonisesta lyhytuni (engl. *chronic short sleep*, CSS) -altistuksesta. (A) A $\beta$ :n immunoreaktiivisuus 18 kuukauden ikäisillä hiirillä (n=9–10/ryhmä) CSS-altistuksen (sininen pylväs) ja lepo-olosuhteiden (kontrolliryhmä) jälkeen (musta pylväs). (B) Konfokaalimikroskooppikuva A $\beta$ :sta (488 nm, vihreä) lepo-olosuhteiden ja CSS-altistuksen jälkeen. (C) Konfokaalimikroskooppikuva A $\beta$ :n (488 nm, vihreä), mikroglion (594 nm, punainen, Iba-1) sekä astroosyyttien (647 nm, violetti, GFAP) paikantumisesta CSS-altistuksen jälkeen. (Owen ja muut 2021.) Kuva muokattu lähteestä (Owen ja muut 2021).

Vaikka CSS ei edesauttanut A $\beta$ -plakkien muodostumista hippokampuksen CA1-alueella, siellä sekä entorinaalisella aivokuorella tau-proteiinin neurotoksinen fosforyloitu cis-muoto oli kasvanut. On kuitenkin otettava huomioon, että hiiret ovat vähemmän alttiita muodostamaan A $\beta$ -fibrillejä sekä  $\beta$ -levyjä, jotka vaaditaan A $\beta$ -plakkien muodostumiseen. Lisäksi aikuiset villityypin hiiret eivät muodosta solunsisäisiä tau-kertymiä, sillä niiltä puuttuu tau 3R-isoformi. CSS-altistuminen ja sen seurauksena merkittävät hermovauriot ovat kuitenkin mahdollisia. (Owen ja muut 2021.)

Kuitenkin TREM2:ta ilmentävillä hiirillä krooninen univaje kasvattaa immunopositivisten, fibrillaaristen A $\beta$ -plakkien määrän kaksinkertaiseksi aivojen tursopaimun alustalla (engl. *subiculum*). TREM2:ta ilmentävillä, normaalisti nukkuneilla

hiirillä tai univajeesta kärsivillä TREM2 poistogeenisillä hiirillä A $\beta$ :n sakkautumista ei merkittävästi tapahtunut. (Parhizkar ja muut 2023.) Parhizkar työryhmineen (2023) esittävätkin, että univajeesta johtuvassa A $\beta$ :n sakkautumisessa vaaditaan toiminnallinen TREM2.

## 7. Yhteenveto

Gliasolut kattavat suurimman osan keskushermoston soluista, jonka vuoksi niillä on myös tärkeä rooli keskushermoston homeostaasin ylläpidossa. Tämän homeostaattisen tilan järkkäminen johtaa keskushermostossa immuunijärjestelmän eli gliasolujen aktivaatioon. Gliasolujen monimuotoiset toiminnot edesauttavat homeostaattisen tilan palauttamista, mutta osa toiminnoista voi myös johtaa neuroinflammaatioreaktion kehittymiseen ja sen pahenemiseen.

Mikroglia jakavat samankaltaisia toimintoja kuin astrocytytit. Tämän vuoksi esimerkiksi mikroglion toimintojen tutkimisessa on tärkeää huomioida astrocyttien lisäksi myös muut solutyypit. Kumpikin solutyyppi on vastuussa esimerkiksi uni-valverytmin säätelystä eri mekanismein. On tiedossa, että mikroglia säätelevät unta solunsisäisen  $Ca^{2+}$ -signaaloinnin avulla, kun taas astrocytytit vaikuttavat unen säätelyyn hermosolujen kautta.

Uni on välttämätöntä kaikille nisäkkäille ja huono unen laatu aiheuttaa erilaisia solujen toimintahäiriöitä niin keskushermostossa, kuin muualla kehossa. Sekä akuutti univaje, että krooninen univaje aiheuttaa mikroglion morfologiaan muutoksen immunologisesti aktiiviseen muotoon. Tämä voi johtaa esimerkiksi lisääntyneeseen komplementtiaktiivisuuteen ja mahdollisesti hermosolujen fagosytointiin. Mikroglion lisääntyneellä fagosytoimisella voi olla osansa myös Alzheimerin taudissa. Univaje kasvattaa  $A\beta$ :n konsentraatiota aivoissa, joka kertyessään mikroglion lysosomeihin aikaansaa mikroglion toimintahäiriöitä, joka edesauttaa taudin pahenemista. Lisäksi krooninen univaje voi aiheuttaa myös pitkäaikaisia muutoksia aivoissa ja keskushermostossa. Pitkäaikaisten vaikutusten tutkiminen ja homeostaattisen tilan palauttaminen on kuitenkin toistaiseksi vielä tutkimuksen ja kehityksen alla.

## 8. Lähteet

- Allen, N. J. & Barres, B. A. (2009) Glia—More than just brain glue. *Nature* **457**:675–677.
- Allen, N. J. & Lyons, D. A. (2018) Glia as architects of central nervous system formation and function. *Science* **362**:181–185.
- Bellesi, M., De Vivo, L., Chini, M., Gilli, F., Tononi, G. & Cirelli, C. (2017) Sleep Loss Promotes Astrocytic Phagocytosis and Microglial Activation in Mouse Cerebral Cortex. *J Neurosci* **37**:5263–5273.
- Deurveilher, S., Golovin, T., Hall, S. & Semba, K. (2021) Microglia dynamics in sleep/wake states and in response to sleep loss. *Neurochemistry International* **143**:104944.
- Franco-Bocanegra, McAuley, Nicoll, & Boche (2019) Molecular Mechanisms of Microglial Motility: Changes in Ageing and Alzheimer’s Disease. *Cells* **8**:639.
- Franken, P. & Dijk, D.-J. (2024) Sleep and circadian rhythmicity as entangled processes serving homeostasis. *Nat Rev Neurosci* **25**:43–59.
- Gentry, N. W., McMahon, T., Yamazaki, M., Webb, J., Arnold, T. D., Rosi, S., ... Fu, Y.-H. (2022) Microglia are involved in the protection of memories formed during sleep deprivation. *Neurobiology of Sleep and Circadian Rhythms* **12**:100073.
- Ginhoux, F. & Prinz, M. (2015) Origin of Microglia: Current Concepts and Past Controversies. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **7**:a020537.
- Herz, J., Filiano, A. J., Wiltbank, A. T., Yogev, N. & Kipnis, J. (2017) Myeloid Cells in the Central Nervous System. *Immunity* **46**:943–956.
- Huang, C.-T., Chiang, R. P.-Y., Chen, C.-L. & Tsai, Y.-J. (2014) Sleep Deprivation Aggravates Median Nerve Injury-Induced Neuropathic Pain and Enhances Microglial Activation by Suppressing Melatonin Secretion. *Sleep* **37**:1513–1523.

- Inoue, K. & Tsuda, M. (2018) Microglia in neuropathic pain: Cellular and molecular mechanisms and therapeutic potential. *Nat Rev Neurosci* **19**:138–152.
- Jäkel, S. & Dimou, L. (2017) Glial Cells and Their Function in the Adult Brain: A Journey through the History of Their Ablation. *Front Cell Neurosci* **11**.
- Katsumoto, A., Takeuchi, H., Takahashi, K. & Tanaka, F. (2018) Microglia in Alzheimer's Disease: Risk Factors and Inflammation. *Front Neurol* **9**:978.
- Kaur, D., Sharma, V. & Deshmukh, R. (2019) Activation of microglia and astrocytes: A roadway to neuroinflammation and Alzheimer's disease. *Inflammopharmacol* **27**:663–677.
- Kim, S. U. & De Vellis, J. (2005) Microglia in health and disease. *J of Neuroscience Research* **81**:302–313.
- Liu, S., Meng, Y., Wang, N., Lei, Q., He, L., Hong, X. & Li, Z. (2023) Disturbance of REM sleep exacerbates microglial activation in APP/PS1 mice. *Neurobiology of Learning and Memory* **200**:107737.
- Ma, C., Li, B., Silverman, D., Ding, X., Li, A., Xiao, C., ... Dan, Y. (2024) Microglia regulate sleep through calcium-dependent modulation of norepinephrine transmission. *Nat Neurosci*.
- Owen, J. E., Zhu, Y., Fenik, P., Zhan, G., Bell, P., Liu, C. & Veasey, S. (2021) Late-in-life neurodegeneration after chronic sleep loss in young adult mice. *SLEEP* **44**:zsab057.
- Parhizkar, S., Gent, G., Chen, Y., Rensing, N., Gratuze, M., Strout, G., ... Holtzman, D. M. (2023) Sleep deprivation exacerbates microglial reactivity and A $\beta$  deposition in a *TREM2* -dependent manner in mice. *Sci Transl Med* **15**:eade6285.
- Prinz, M., Erny, D. & Hagemeyer, N. (2017) Ontogeny and homeostasis of CNS myeloid cells. *Nat Immunol* **18**:385–392.

- Que, M., Li, Y., Wang, X., Zhan, G., Luo, X. & Zhou, Z. (2023) Role of astrocytes in sleep deprivation: Accomplices, resisters, or bystanders? *Front Cell Neurosci* **17**:1188306.
- Tan, Y.-L., Yuan, Y. & Tian, L. (2020) Microglial regional heterogeneity and its role in the brain. *Mol Psychiatry* **25**:351–367.
- Tuan, L.-H. & Lee, L.-J. (2019) Microglia-mediated synaptic pruning is impaired in sleep-deprived adolescent mice. *Neurobiology of Disease* **130**:104517.
- Wisor, J. P., Schmidt, M. A. & Clegern, W. C. (2011) Evidence for Neuroinflammatory and Microglial Changes in the Cerebral Response to Sleep Loss. *Sleep* **34**:261–272.
- Xiao, S.-Y., Liu, Y.-J., Lu, W., Sha, Z.-W., Xu, C., Yu, Z.-H. & Lee, S.-D. (2022) Possible Neuropathology of Sleep Disturbance Linking to Alzheimer’s Disease: Astrocytic and Microglial Roles. *Front Cell Neurosci* **16**:875138.
- Yang, Q. & Zhou, J. (2019) Neuroinflammation in the central nervous system: Symphony of glial cells. *Glia* **67**:1017–1035.
- Zhang, M., Pan, X., Jung, W., Halpern, A. R., Eichhorn, S. W., Lei, Z., ... Zhuang, X. (2023) Molecularly defined and spatially resolved cell atlas of the whole mouse brain. *Nature* **624**:343–354.
- Zhao, Q., Xie, X., Fan, Y., Zhang, J., Jiang, W., Wu, X., ... You, Z. (2015) Phenotypic dysregulation of microglial activation in young offspring rats with maternal sleep deprivation-induced cognitive impairment. *Sci Rep* **5**:9513.