

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Lucie Pospíšilová

Význam časového systému pro zdraví člověka

Significance of the timekeeping system for human health

Bakalářská práce

Školitel:

PharmDr. Alena Sumová DrSc.

Praha, 2011

Děkuji své školitelce PharmDr. Aleně Sumové DrSc. za cenné rady, trpělivost a motivaci, kterou mi dodávala při psaní této práce.

Prohlášení:

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

V Praze, 17.8.2011

Lucie Pospíšilová

Abstrakt:

Cirkadiánní systém vznikl jako adaptace na cyklicky se opakující změny podmínek pro život na Zemi, především střídání světla a tmy s periodou solárního dne. Rytmičtý signál vzniká v organismu na buněčné úrovni díky rytmickému spínání hodinových genů a jejich proteinových produktů. Suprachiasmatická jádra (SCN) v hypothalamu jsou hlavním cirkadiánním oscilátorem savců a řídí denní cykly fyziologických a behaviorálních procesů. V periferních tkáních fungují lokální oscilátory, které jsou neuroendokrinními signály ze SCN synchronizovány k denní době a k sobě navzájem. Pro správnou funkci organismu je nutná vzájemná synchronizace všech složek cirkadiánního systému. Nejdůležitějším synchronizátorem systému s denní dobou je světlo působící na SCN přes retinu. U některých nevidomých je vnímání světla v retině narušeno, a proto nemohou být světlem synchronizováni. SCN řídí rytmické uvolňování hormonu melatoninu z epifyzy. Tento hormon zprostředkovává informaci o denní době dalším tkáním, které nejsou na světlo citlivé. Cirkadiánní systém časově řídí řadu dalších procesů, včetně cyklu buněčného dělení. Zdá se, že jednou z příčin některých nádorových onemocnění může být narušení této časové regulace. V lidské populaci byla zjištěna různá exprese a polymorfismy hodinových genů. Na základě rozšiřujících se poznatků o cirkadiánním systému se otvírají nové možnosti terapie založené na podávání léků v době jejich největšího účinku, tzv. chronoterapie.

Klíčová slova: buněčný cyklus, cirkadiánní systém, hodinové geny, melatonin, nádorová onemocnění, chronoterapie

Abstract:

The circadian system evolved as an adaptation to cyclic changes in external conditions on Earth, mainly the alternation of light and dark with a period of solar day. The rhythmic signal is generated at the cellular level and it is controlled by rhythmic expression of clock genes and their protein products. In mammals, the hypothalamic suprachiasmatic nuclei (SCN) are the principal circadian oscillator coordinating daily cycles of physiology and behavior, while in peripheral tissues local oscillators operate. The peripheral oscillators are entrained to the daytime and also among each other, by neuroendocrine signals from the SCN. Mutual synchrony of all the circadian components is necessary for proper function of the organism. The main entraining cue of the circadian system with environment is light, which affect the SCN via retina. In a subgroup of blind people sensing the light in the retina is disturbed and their circadian system cannot be synchronized by light. The SCN controls rhythmic production of melatonin in the pineal gland. This hormone mediates the information about the daytime to other tissues in the body, which are not photosensitive. The circadian system temporally drives many processes, including the cell division cycle. It seems that disruption of the temporal regulation could contribute to incidence of some kind of cancer. In human population, variability in expression of clock genes and their polymorphisms have been detected. The increasing knowledge on the circadian system opens new options of therapy, i.e., chronotherapy, which is based on delivery of the drug at the daytime when its effect is the highest.

Keywords: cell cycle, circadian system, clock genes, melatonin, cancer, chronotherapy

Seznam použitých zkratk:

ASPS	předsunutá fáze spánku
ATM	Ataxia telangiectasia mutated
ATR	Ataxia telangiectasia RAD3-related
ATRIP	ATR-interacting protein
AVP	arginin vasopresin
Bmal1	Brain and muscle Amt-like protein 1
CBP	CREB binding protein
CCG	clock-controlled genes, hodinami kontrolované geny
CDC2	cell division cycle protein
CHK1,2	check point kináza
CK1 ϵ	kasein kináza 1 ϵ
Clock	Circadian locomotor output cycles kaput
CREB	calcium/cAMP response element binding protein
Cry1,2	Cryptochrom
DNA	deoxyribonukleová kyselina
DSPS	zpožděná fáze spánku
Egr1	Early growth response 1
GABA	γ -aminomáselná kyselina
GRP	gastrin-releasing peptid
HMG-CoA	hydroxymethylglutaryl koenzym A
HPA	hypothalamo-hypofyzárně-nadledvinová osa
IL1 β	interleukin 1 β
LAN	light at night
MAPK	mitogen-activated protein kinase
MT1,2	melatoninový receptor 1,2
Npas2	neuronal PAS domain-containing protein 2
PACAP	pituitary adenylate cyclase-activating polypeptid
PAS	doména se senzoricou funkcí signálních proteinů
Per1,2	Period 1,2
PKA	protein kináza A
RHT	retinohypothalamický trakt
RREs	ROR response elements
Rora	RAR-related orphan receptor α
SAD	sezónní afektivní porucha
SCN	suprachiasmatické jádro
TIM	Timeless
TNF α	tumor necrosis factor α
Tyr	Tyrosin
VIP	vasoaktivní intestinální peptid
Wee1	jaderná protein kináza

Obsah:

1. Úvod	1
1.1. Cíl práce	1
1.2. Historie objevování biologických hodin	1
2. Cirkadiánní systém	2
2.1. Umístění, stavba a funkce centrálních biologických hodin	2
2.2. Propojení periferních hodin s centrálními	3
2.3. Molekulární mechanismus biologických hodin	4
2.4. Synchronizace světlem	7
2.5. Melatonin	7
2.5.1. Historie objevování účinků melatoninu	8
3. Časová regulace buněčného cyklu	9
3.1. Buněčný cyklus	9
3.2. Cirkadiánní regulace buněčného cyklu	10
4. Poruchy cirkadiánní regulace	12
4.1. Experimentální studie	12
4.1.1. Regulace odpovědi na poškozenou DNA	12
4.1.2. Hodinový gen Per, jeho exprese a polymorfismus	13
4.2. Klinické studie	14
4.2.1. Teorie LAN	14
4.2.2. Porucha synchronizace – volně běžící rytmus	15
4.2.3. Jet lag	16
5. Terapeutické využití	16
5.1. Fototereapie	16
5.2. Chronobiotika	17
5.3. Chronoterapie nádorových onemocnění	18
6. Závěr	20
7. Seznam použité literatury	21

1. ÚVOD

1.1. Cíl práce

Ve své práci bych chtěla čtenářům přiblížit funkci vnitřních biologických hodin a upozornit na jejich důležitost pro zdraví člověka. Dnes už nejsme díky civilizačním výtvarkům tolik jako dříve závislí na podmínkách prostředí, v němž žijeme. Proto se nám může zdát, že se již opravdu stáváme pány svého času. Velký podíl na tom nese Thomas Alva Edison a jeho vynález žárovky v roce 1879. Jak ale vyplývá z přibývajících studií, není to tak docela pravda. Všichni si ve svém těle nosíme biologické hodiny, které odměřují náš vnitřní čas a měli bychom se jimi řídit. V moderní historii člověka se objevuje mnoho poruch a nemocí, jako jsou například cukrovka, obezita a nádorová či psychiatrická onemocnění. Řada těchto chorob se u našich předků nevyskytovala v takové míře jako dnes a počet případů stále narůstá. Říkáme jim proto civilizační choroby. Výsledky výzkumů posledních let ukazují, že existuje přímá souvislost mezi jejich výskytem a tím, že se neřídíme podle svých vlastních biologických hodin. Nejprůkaznější výsledky přinášejí studie u lidí pracujících střídavě na denní a noční směny nebo u zaměstnanců v letecké dopravě, kteří se často pohybují mezi časovými pásmy. Ukazuje se, že pravidelný spánek a dostatek denního světla, které naše vnitřní hodiny seřizuje, je jedním z nejlevnějších, nejdostupnějších a velmi účinných léků, který může alespoň u některých těchto chorob pomoci nebo být účinnou prevencí. Právě souvislostmi mezi vnitřním časovým systémem a některými civilizačními chorobami se bude zabývat tato práce.

1.2. Historie objevování biologických hodin

Jedním z prvních, kdo vědecky zkoumal biologické hodiny, byl francouzský vědec Jean-Jacques d'Ortois de Marian, který v roce 1729 ukázal, že heliotropní rostlina mimóza, která má listy přes den otevřené a na noc je zavírá, se takto chová i ve stálé tmě. Tehdy však i on sám pochyboval o existenci vnitřních hodin organismu a pohyby listů připisoval spíše vlivu vnějších faktorů jako je teplota či magnetické pole, které by mohly být zodpovědné za toto rytmické chování.

Teprve v roce 1960 na sympóziu v Cold Spring Harbor byly položeny základy nově vznikajícímu vědnímu oboru – chronobiologii (řecky chrónos = čas). Základní principy vnitřních biologických hodin formuloval Collin Pittendrigh spolu s Jurgenem Aschofem. Mezi další osobnosti, které stály u zrodu tohoto oboru, patří Franz Halberg. V současné době je chronobiologie jedním z nejdynamičtěji se rozvíjejících oborů.

2. CIRKADIÁNNÍ SYSTÉM

Cirkadiánní (lat. *circa* = přibližně, *dies* = den) rytmus je biologický rytmus s periodou o délce přibližně jednoho dne. V průběhu této periody dochází k pravidelnému kolísání bdělosti a spánku, fyzické aktivity, vyplavování hormonů a fyziologických funkcí. Dalšími biologickými rytmy, kterými se organismy na Zemi přizpůsobují změnám vnějšího prostředí, jsou například rytmus cirkaanuální (tj. s periodou přibližně jednoho roku) a cirkalunární (tj. s periodou přibližně 28 dní).

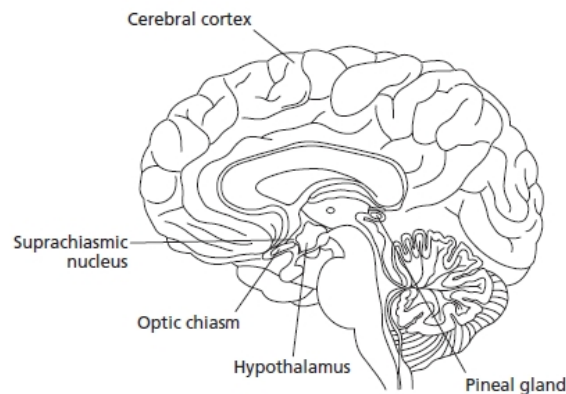
Aby se organismy mohly přizpůsobit pravidelnému střídání dne a noci, vyvinul se u nich molekulární mechanismus vytvářející rytmický signál, který časově reguluje fyziologické funkce a připravuje organismus na pravidelné střídání činností během dne, jako je fyzická aktivita, spánek, příjem potravy a další. Bylo zjištěno, že v organismu savců je takovýmto mechanismem vybavená téměř každá buňka těla. Je přítomen například v buňkách orgánů jako jsou játra, ledviny, srdce, plíce apod. (Schibler a kol., 2003). Centrální hodiny, jejichž chod je seřizován pravidelným střídáním dne a noci, se nachází v hypothalamu (Abe a kol., 2002). Centrální hodiny seřizují následně periferní hodiny, které však mohou být na centrálních hodinách do jisté míry nezávislé (Schibler a kol., 2003).

2.1. Umístění, stavba a funkce centrálních biologických hodin

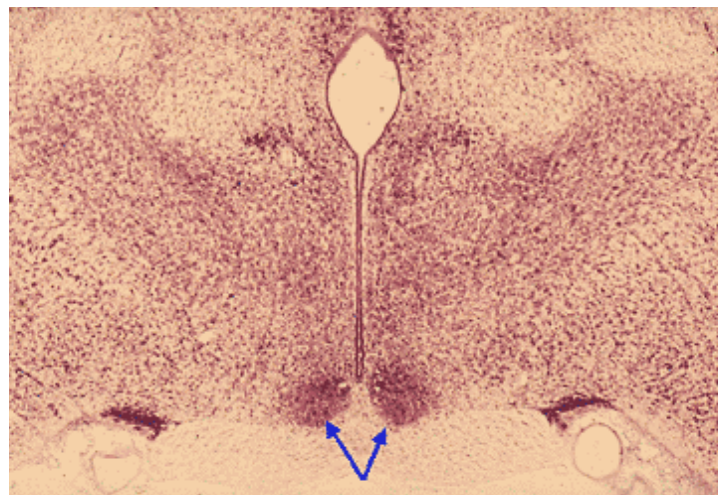
Sídlem centrálních cirkadiánních hodin savců jsou dva shluky nervových buněk (u hlodavců asi 20 tisíc neuronů), které se nacházejí v hypothalamu, přímo nad místem křížení optických nervů (*chiasma opticum*). Jsou proto nazývána suprachiasmatická jádra (SCN). Každý neuron SCN je samostatným oscilátorem a jejich hlavním synchronizátorem je pravděpodobně vasoaktivní intestinální peptid (VIP) (Aton a kol., 2005). Rytmičné oscilace jsou zřejmě synchronizovány také kyselinou γ -aminomáselnou (GABA) (Aton a kol., 2006). Kromě toho jsou v SCN přítomny i další neuromediátory jako například arginin vasopresin (AVP) (Moore a kol., 2002).

SCN jsou heterogenní strukturou jak z neurochemického hlediska, tak z hlediska aferentních a eferentních drah (Kriegsfeld a kol., 2004). Skládají se z různých morfologicky a funkčně odlišných subpopulací buněk. Ventrolaterální oblast (tzv. jádro) se nachází těsně nad optickým chiasmatem a přijímá většinu podnětů z retiny přes RHT. Neurony této oblasti sekretují AVP a kalrektinin (Moore a kol., 2002). Do dorsomediální oblasti (tzv. kůry) se podněty dostávají především z hypothalamu, limbické oblasti a z ventrolaterální oblasti SCN. Tato oblast je charakteristická neurony tvořícími VIP a gastrin releasing peptid (GRP). Ačkoliv je kůra

silnějším autonomním oscilátorem, její synchronizovaná neuronová oscilace závisí z velké části na uvolňování neuropeptidů z jádra (Moga a Moore, 1997; Meijer a Schwartz, 2003).



Obr. 1 – Umístění SCN (převzato z Rice, Graphic © 2001 Psychology Press Ltd).



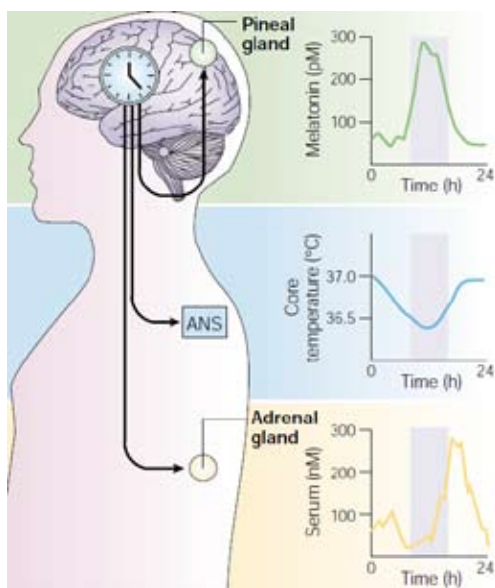
Obr. 2 – Umístění SCN v mozku potkana. Modré šipky označují SCN (převzato z Moore, Copyright © 1994-2011 by Medscape, LLC).

2.2. Propojení periferních hodin s centrálními

Buňky periferních tkání vykazují cirkadiánní rytmicitu a mohou fungovat do jisté míry nezávisle na SCN. U zvířat s odstraněným SCN však dochází ke ztrátě rytmu v genové expresi (Akhtar a kol., 2002). Tato ztráta rytmu je zřejmě způsobena tím, že bez signálů z SCN se jednotlivé periferní oscilátory vzájemně desynchronizují, protože jednotlivé buňky periferních tkání mohou vykazovat rytmus v *in vitro* podmínkách, tedy bez přímého vlivu SCN (Yoo a kol.,

2004). Na rozdíl od SCN však nejsou periferní oscilátory u savců fotosenzitivní a aby byly synchronizovány se střídáním dne a noci, musí spoléhat na SCN (Hastings a kol., 2003).

SCN využívají pro signalizaci k periferním orgánům jak nervovou, tak humorální cestu. Neurony SCN vykazují cirkadiální cykly elektrických výbojů a koncentrace cytosolického Ca^{2+} (Ikeda a kol., 2003). Signál je přenášen multisynaptickým spojením přes hypothalamické paraventriculární jádro na adrenokortikotropní osu a k autonomním gangliím, která inervují vnitřní orgány (Buijs a Kalsbeek, 2001). Rytmicky uvolňované glukokortikoidy jsou považovány za potenciální synchronizační signál pro periferní oscilátory (Schibler a Sassone-Corsi, 2002). Přes spoje s paraventriculárním jádrem je polysynaptickou dráhou SCN spojeno s epifýzou a řídí tak rytmicky uvolňování melatoninu, který se podílí na signalizaci denní doby v organismu (Vrang a kol., 1995). Inervace dorsomediálního hypothalamu se podílí na kontrole orexin/hypokretinového systému, který zajišťuje bdělost (Abrahamson a kol., 2001), a regulaci příjmu potravy (Gooley a kol., 2006). Dalším možným synchronizátorem periferních hodin organismu je teplota. Brown a kol. svými pokusy s fibroblasty potkanů ukázali, že teplotní rytmus organismu i okolního prostředí se podílí na synchronizaci periferních tkání savců (Brown a kol., 2002).



Obr. 3 – Schéma výstupních drah ze SCN.

Centrální hodiny uložené v SCN v hypothalamu vysílají humorálními a neurálními cestami signál k periférii a řídí nebo synchronizují tak fyziologické rytmy. Tím je zajištěno správné nastavení organismu na denní dobu a s ní spojené nároky a příležitosti. ANS, autonomní nervový systém, doba spánku v grafu šedě (převzato z Hastings a kol., 2003).

2.3. Molekulární mechanismus biologických hodin

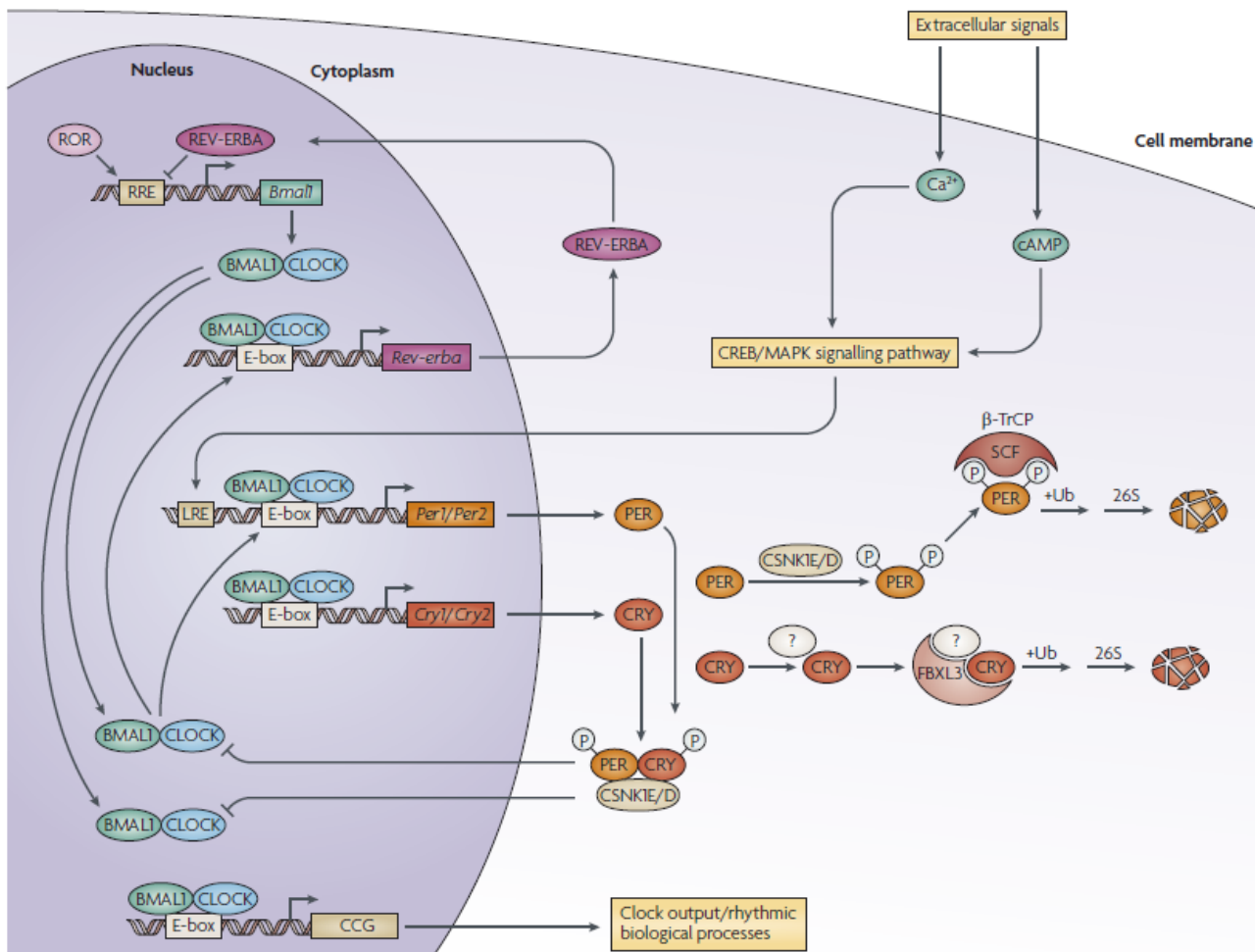
Základem tohoto mechanismu je rytmické spínání sady tzv. hodinových genů, které je regulováno pomocí vzájemně propojených transkripčně-translačních zpětnovazebných smyček (Reppert a Weaver, 2002; Takahashi a kol., 2008).

Mezi hodinové geny patří *Period 1-3 (Per1-3)*, *Clock*, *Brain-muscle ARNT-like protein 1 (Bmal1)*, *Cryptochrom (Cry1-2)*, *Rev-erba*, *Rora* a *casein kinase Iε (CK1ε)*.

Translatované proteiny CLOCK a BMAL1 se spojují v heterodimer pomocí PAS domény a strukturou helix-loop-helix se váží na E-boxy v promotorové oblasti mnoha genů včetně *Per* a *Cry* a působí jako pozitivní regulátory aktivující jejich transkripci. V cytoplazmě dochází k translaci těchto transkriptů a vznikají proteiny PER a CRY. PER protein je pomocí CK1ε fosforylován a dále je buď degradován, nebo vytváří heteromery s CRY, které prochází zpět do jádra, kde inhibují funkci heterodimeru CLOCK/BMAL1. Tím se uzavírá hlavní cirkadiánní negativní zpětnovazebná smyčka.

Heterodimer CLOCK/BMAL1 také indukuje expresi jaderných receptorů REV-ERB α a ROR α , které nasedají na promotorovou oblast ROREs v promotoru genu *Bmal1* a tím řídí jeho transkripci. Protein REV-ERB α působí jako represor, ROR α naopak tuto transkripci indukuje (Albrecht a Eichele, 2003). Touto smyčkou dochází k posílení celého mechanismu a robustnosti rytmického signálu.

V důsledku těchto transkripčně-translačních smyček dochází k přepisu genů *Per* a *Cry* hlavně ve dne, zatímco gen *Bmal1* je přepisován v noci. Hladina transkriptu genu *Clock* je v cirkadiánních hodinách v SCN během celého dne konstantní (Fu a Lee, 2003).



Obr. 4 – Savčí cirkadiální hodiny složené z transkripčně-translačních zpětnovazebných smyček. Hodinový mechanismus je sestaven ze zpětnovazebných smyček tvořených skupinou jaderných hodinových genů. Hlavní negativní zpětnovazebnou smyčku savců tvoří geny *Clock* (a jeho nervový paralog 2 obsahující PAS doménu, *Npas2*), *Bmal1*, period homolog *Per1* a *Per2*, cryptochrom *Cry1* a *Cry2*. CLOCK (nebo NPAS2) a BMAL1 jsou transkripční faktory obsahující PAS-doménu a motiv helix-loop-helix, které aktivují transkripci genů *Per* a *Cry*. Translatované proteiny PER a CRY vytváří heterodimery, prochází do jádra a interagují s komplexem CLOCK-BMAL1 a inhibují tak svou vlastní transkripci. Po určitém čase je represorový komplex PER-CRY degradován a komplex CLOCK-BMAL1 tak může aktivovat nový transkripční cyklus. Další autoregulační smyčku tvoří *Rev-erba*, který je přímým cílem transkripčního aktivátorového komplexu CLOCK-BMAL1. REV-ERBA zpětně působí jako represor transkripce genu *Bmal1* a kompetuje s ROR (retinoic acid-related receptor) o navázání na RREs (ROR response elements) v promotorové oblasti genu *Bmal1*. Dalšími klíčovými kroky udávání cirkadiální rytmicity jsou posttranslační modifikace a degradace těchto hodinových proteinů. Fosforylace proteinů PER a CRY zajišťuje CSNK1D a CSNK1E (kasein-kináza 1 δ a ε). Jednou z rolí fosforylace hodinových proteinů je jejich označení pro ubiquitylaci a následnou degradaci cestou proteosomu 26S. Ubiquitin-ligázové komplexy β-TrCP1 a FBXL3 E3 se podílejí na degradaci proteinů PER a CRY. CCG – hodinami kontrolované geny, CREB – cAMP response element-binding, E-box – CACGTG/T shodná sekvence, MAPK – mitogen activated protein kinase, SCF, SCF E3 – ubiquitin-ligáza, Ub – ubiquitin (převzato z Takahashi a kol., 2008).

2.4. Synchronizace světlem

Jak již bylo řečeno, biologické hodiny jsou endogenního charakteru – běží s periodou, která je jim vlastní a nepotřebují k tomu žádné podněty z vnějšího prostředí. Jejich perioda ale není přesně 24 hodin. U jedinců v populaci kolísá mezi 23,7 a 24,5 hodiny, přičemž u 90 % lidí je delší než 24 hodin (Duffy a kol., 2001). Proto potřebují být pravidelně seřizovány s vnějším prostředím. Synchronizátorem, neboli zeitgeberem (z něm. *Zeit* = čas a *geber* = udávající), je světlo dopadající na sítnici. Bylo zjištěno, že kromě čípků a tyčinek se v sítnici vyskytují ještě speciální gangliové buňky produkující fopigment melanopsin (Provenzio a kol. 2000; Perez-Leon a kol., 2006), který je nejcitlivější na modrou část světelného spektra (Hankins a kol., 2008). Tyto buňky přímo reagují na světlo depolarizací (Hattar a kol., 2002). Jejich axony tvoří retinohypotalamický trakt (RHT), kterým se signál dostává do SCN. Neurotransmitery na synapsích v SCN jsou glutamát, a PACAP (z angl. pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide) (Hannibal, 2002), které aktivují expresi *Per* v cílových buňkách ventrolaterální oblasti (Nakamura a kol., 2005). Odtud se signál dostává do dorsomediální oblasti, jako neurotransmitter působí GABA (Albus a kol., 2005). K indukci exprese genů *Per* dochází pouze po osvětlení během subjektivní noci (Miyake a kol., 2000) a tato indukce je nezbytná pro světelnou synchronizaci molekulového mechanismu cirkadiálních hodin v SCN (Albrecht a kol., 2001). Světlo vyvolá fázový posun tohoto mechanismu v závislosti na době, ve které na hodiny působí. Světlo zasahující do první poloviny subjektivní noci hodiny opožďuje a světlo působící ve druhé polovině subjektivní noci je urychluje (Pittendrigh, 1981). Díky tomu jsou hodiny, které běží s periodou kratší než 24 hodin světlem zvečera opožďovány a ty, které běží s periodou delší než 24 hodin naopak urychlovány.

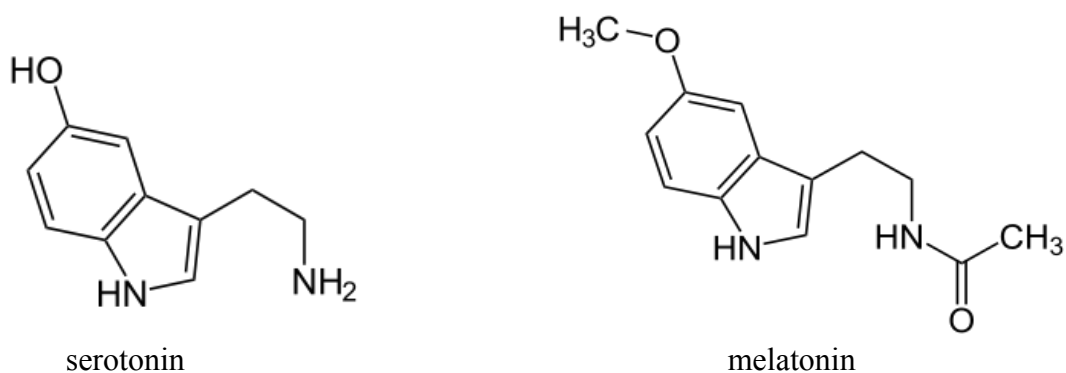
Ohta se svými spolupracovníky ukázal, že u myši chovaných v podmínkách stálého světla dochází k fyziologické a behaviorální arytmičnosti, způsobené vzájemnou desynchronizací jednotlivých oscilátorů v SCN (Ohta a kol., 2005). Pokud jsou tyto myši s desynchronizovaným SCN přeneseny do stálé tmy, dochází velmi rychle k opětovné resynchronizaci (Chen a kol., 2008).

2.5. Melatonin

Melatonin (5-methoxy-N-acetyltryptamin) je hormon epifyzy obratlovců. Produkce tohoto hormonu má výrazný cirkadiální rytmus, který je u savců vyvoláván centrálními hodinami v SCN. Ze SCN vede multisynaptická nervová dráha, která přenáší k epifyze signál o denní době a řídí tak rytmickou produkci melatoninu. V epifyze je melatonin syntetizován ze

serotoninu (5-hydroxytryptamin). Limitujícím krokem této syntézy je N-acetylace serotoninu, kterou provádí enzym arylalkylamin N-acetyltransferáza, jehož aktivita je pod kontrolou centrálních hodin (Klein, 2007). Díky tomu hladina melatoninu vykazuje cirkadiánní rytmus. U všech obratlovců je hladina melatoninu vysoká v noci (Reppert a Weaver, 1995). Hladina melatoninu je přímo citlivá na světlo a po osvětlení během noci okamžitě klesá (např. Lewy a kol., 1980).

Melatonin, je malá lipofilní molekula, která snadno prostupuje buněčnou membránou. Může tedy snadno dávat informaci o denní době ostatním buňkám a orgánům v těle. Zpětně působí i na SCN, kterým je jeho produkce regulována. Na membráně neuronů SCN jsou přítomny dva podtypy melatoninových receptorů, MT1 a MT2 (Reppert a kol., 1995).



2.5.1. Historie objevování účinků melatoninu

Objevování melatoninu, jak už to u většiny významných objevů bývá, se ubíralo složitou cestou s mnoha slepými odbočkami. Když v roce 1958 Lerner se svými spolupracovníky objevili melatonin (Lerner a kol., 1958), jistě nepředpokládali, že tento hormon bude mít pro fyziologii tak obrovský význam, protože se v dermatologických pokusech nepotvrdil jejich předpoklad, že by se jeho podávání dalo využít při léčbě vitiliga. Velmi brzy potom se však objevily studie prováděné na laboratorních zvířatech, které prokázovaly, že melatonin působí na mozek a na gonády a další části neuroendokrinního systému (Wurtman a kol., 1963; Reiter a kol., 1978). O několik desetiletí později již přestávalo být pochyb o tom, že melatonin má i u člověka významné fyziologické účinky a může se podílet na určitých klinických syndromech nebo se dá využít k jejich léčbě (Wurtman, 1985).

Od roku 1965 bylo zřejmé, že epifýza u savců funguje jako neuroendokrinní převodník, který má zvláštní roli v převodu vnějšího signálu světlo/tma na signál srozumitelný pro mozek a tělo (tj. hladinu melatoninu v krvi) a může modulovat neuroendokrinní funkce (Wurtman, 1985).

Dlouhou dobu se zdálo, že fyziologická funkce epifýzy se u člověka odlišuje od ostatních savců. Na rozdíl od experimentálních zvířat totiž v pokusech při vystavení člověka stálému osvětlení nepotlačilo noční vzestup syntézy melatoninu. Nakonec se však ukázalo, že pokud je použito světlo dostatečné intenzity, asi desetkrát vyšší, než je při zatažené obloze, sekrece melatoninu byla také potlačena (Lewy, 1981). V poslední době se objevují práce, které ukazují na to, že kromě intenzity světla je pro potlačení hladiny melatoninu důležitá také jeho správná vlnová délka (Hankins a kol., 2008). Kayumov se spolupracovníky vycházeli z poznatků, že tvorbu melatoninu nejvíce potlačuje světlo s krátkou vlnovou délkou 470 – 525 nm. Provedli studii, ve které část sledovaných osob nosila během noci při umělém osvětlení speciální brýle, které odfiltrovaly světlo s kratší vlnovou délkou než 530 nm, a měřili hladinu melatoninu ve slinách. Zjistili, že průběh cirkadiánního cyklu melatoninu při použití těchto brýlí je srovnatelný s normálním režimem nočního spánku (Kayumov a kol., 2005).

3. ČASOVÁ REGULACE BUNĚČNÉHO CYKLU

3.1. Buněčný cyklus

Popis buněčného cyklu je do této kapitoly zařazen pro úplnost, informace byly čerpány z učebnice molekulární biologie (Karp, 2005).

Buněčný cyklus je cyklus, kterým buňka prochází od svého vzniku k dalšímu dělení. Je rozdělen do několika fází. V první G_1 fázi buňka roste, syntetizují se proteiny a RNA a vytváří se zásoba nukleotidů a enzymů pro replikaci DNA. Na konci této fáze musí buňka projít G_1/S kontrolním bodem. To se děje při dostatku cyklinu D, jehož exprese je stimulována růstovými faktory či onkogeny. Ten způsobí expresi cyklinu E, který interaguje s CDK2 (cyklin-dependentní kináza). Tak buňka překoná první kontrolní bod. Při nedostatku živin či signalizaci okolní tkáně tímto bodem buňka neprojde a dostává se do fáze G_0 , ve které je její cyklus zastaven. V následující S fázi dochází k replikaci a zdvojení DNA. Poté buňka přechází do G_2 fáze, ve které se zdvojí organely a vytváří se struktury, jako je mitotické vřeténko, potřebné pro rozdělení buňky. Na konci této fáze se nachází další kontrolní bod. Tento bod je významný především proto, že při poškození DNA zabraňuje vstupu buňky do mitózy a vzniku buněk s mutovanou, poškozenou, či neúplnou genetickou informací. Tento kontrolní bod zahrnuje aktivační fosfatázu Cdc25, která může být inaktivována jinými protein kinázami. Cdc25

odstraňuje inhibiční fosfátovou skupinu z MPF komplexu (mitózu podporující faktor), který pak může aktivovat CDK tohoto kontrolního bodu. Pokud buňka úspěšně projde tímto bodem, dostane se do M fáze (mitóza), kdy dochází k jejímu rozdělení na dvě buňky se stejnou genetickou informací. To zajišťuje složitý aparát buněčných struktur a proteinů. V anafázi (předposlední fáze M fáze) se nachází poslední kontrolní bod. Když jsou všechny chromozómy navázány na kinetochorové mikrotubuly dělicího vřeténka tak, aby mohlo dojít k jejich správnému rozdělení, dojde k degradaci cyklinu B, který dosud inhiboval APC (anafázi podporující komplex). APC polyubiquitinací inhibičních proteinů způsobí aktivaci separázy, která od sebe odděluje sesterské chromatidy. Ty se od sebe oddalují a dochází k cytokinezi, po níž dceřinné buňky opět vstupují do G₁ fáze (Karp, 2005).

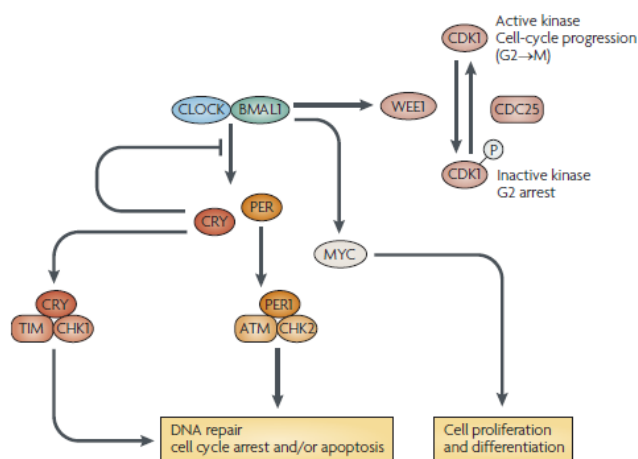
3.2. Cirkadiánní regulace buněčného cyklu

U mnoha organismů bylo pozorováno, že buněčný cyklus podléhá cirkadiánní kontrole. Hlavním smyslem této regulace je načasování replikace DNA do tmavé části dne, kdy nedochází k jejímu poškození UV zářením (Pittendrigh, 1993). Cirkadiánní systém je propojen s cyklem buněčného dělení cirkadiánní kontrolou genové exprese a posttranslačními mechanismy (Takahashi a kol., 2008). Matsuo a kol. prováděli parciální hepatektomii u myši chovaných v podmínkách střídání světla a tmy po 12 hodinách. U jedné skupiny byl zákrok proveden v čase ZT0 (ZT = Zeitgeber, ZT0 = rozsvícení světla, ZT12 = zhasnutí), u druhé v čase ZT8. Následně pozorovali regeneraci jater. S-fáze vrcholila u obou skupin 36 hodin po zákroku. Naopak hepatocyty myši se zákrokem provedeným v ZT8 se do M-fáze dostaly po 40 hodinách, kdežto u ZT0 až po 44 – 48 hodinách. Zjistili, že cirkadiánní hodiny v proliferujících hepatocytech mohou oscilovat nezávisle na buněčném cyklu a tento vnitřní oscilační mechanismus reguluje načasování a rychlost průběhu buněčného cyklu (Matsuo a kol., 2003). To se děje přes hodinami kontrolované geny (CCG) jako je například Wee1. Exprese WEE1 ovlivňuje načasování vstupu buňky do M-fáze (Rothblum-Oviatt a kol., 2001). Vysoká hladina WEE1 je ve světelné části dne, když je dostatek transkriptu Per1, a vstup do M-fáze buněčného cyklu je potlačen (Matsuo a kol., 2003). Při zkoumání molekulárního mechanismu regulace buněčného cyklu závislé na denní době se dále Matsuo a kol. soustředili na kinázovou aktivitu proteinu CDC2 (cell division cycle), který je iniciátorem mitózy (Ohi a Gould, 1999). Nejvyšší hladina tohoto proteinu byla zjištěna 40 – 48 hodin po hepatektomii, tedy v době, kdy nejvíce buněk podstupovalo mitózu. Nejvyšší hladina transkriptů cyklinu B1 a cdc2, jejichž produkty formují cyklinB1-CDC2-kinázový komplex, odpovídá vrcholu kinázové aktivity CDC2. Produkt genu Wee1 fosforyluje CDC2 na Tyr-15 a tím ho udržuje v inaktivní formě (Parker a Piwnicka-Worms, 1992; McGowan a Russell,

1993).

Buněčný cyklus může být regulován také odpovědí na poškození DNA. Poškození DNA spouští mechanismy, které mohou způsobit zastavení buněčného cyklu v kontrolních bodech, apoptózu, nebo opravu DNA. Tyto mechanismy zahrnují ATM (ataxia telangiectasia mutated), ATR (ataxia telangiectasia RAD3-related) a CHK1,2 (check point kináza 1,2), které aktivují protein p53. Hodinový protein PER1 přímo interaguje s kinázami ATM a CHK2, které jsou aktivovány dvouvláknovými zlomy DNA (Gery a kol., 2006). Další cirkadiánní protein TIM (timeless), který je důležitý pro sílu rytmicity, interaguje s ATR, CHK1 a ATRIP (ATR-interacting protein), což jsou proteiny kontrolních bodů buněčného cyklu. Tato interakce je také stimulována poškozením DNA a zdá se, že TIM funguje jako mediátor mezi senzory a efektory odpovědi na poškození DNA.

Tento mechanismus propojení cirkadiánních hodin s buněčným cyklem, který je tak regulován, se objevuje i v dalších tkáních jako je například ústní a gastrointestinální sliznice, kůže a kostní dřeň.



Obr. 5 – Cirkadiánní kontrola cyklu buněčného dělení. Transkripce onkogenu myelocytomatosi (*Myc*) a *Wee1* podléhá cirkadiánní regulaci a je přímo ovlivňována působením komplexu CLOCK-BMAL1. Exprese *Wee1* je koregulovaná s homologem genu *Per* a vstup buněčného cyklu do M-fáze je potlačen během světelné části dne, kdy je transkripce *Per* a *Wee1* vysoká. PER1 protein interaguje s proteiny kontrolních bodů ataxia telangiectasia mutated (ATM) a kinázou 2 (CHK2). Proteiny TIM a CRY jsou spojeny s kinázou CHK1. Aktivace cest poškození DNA může resetovat fázi cirkadiánních hodin. CDC25 – cell division cycle 25; CDK1 cyklin-dependentní kináza 1 (převzato z Takahashi a kol., 2008).

4. PORUCHY CIRKADIÁNNÍ REGULACE

Buněčný cyklus je regulován mnoha mechanismy na různých místech, přičemž porušení jediné jeho regulační složky může mít pro buňku fatální důsledky. To se projeví vznikem a růstem nádoru. K tomu stačí jediná buňka, která se začne nekontrolovaně dělit. Vzhledem k tomu, že se na této regulaci podílí i hodinové geny a jejich cirkadiánní rytmus (viz výše), stále více pozornosti se věnuje souvislostem mezi nádorovými onemocněními a narušením cirkadiánního systému. Bylo například prokázáno, že proliferace zdravých a nádorových buněk pacientek s nádorem vaječníku se signifikantně liší v čase, ve kterém nejvíce buněk vstupuje do S fáze (Klevecz a kol., 1987).

Nádorová onemocnění patří v industrializovaných zemích hned po kardiovaskulárních onemocněních k nejčastějším příčinám úmrtí. Z provedených studií vyplývá, že u lidí pracujících ve směnném provozu, jejichž cirkadiánní rytmus je narušen, je zvýšené riziko nádorových onemocnění a jejich prognóza je horší (Schernhammer a kol., 2001, Schernhammer a kol., 2003; Kubo a kol., 2006). Innominato a kol. provedli studii, ve které sledovali korelaci kvality života a prognózu přežití pacientů s metastázujícími nádory kolorekta. Zjistili, že u pacientů s dobrým performance status byl cirkadiánní rytmus aktivity a odpočinku signifikantně větší než u pacientů se špatným performance status (Innominato a kol., 2009).

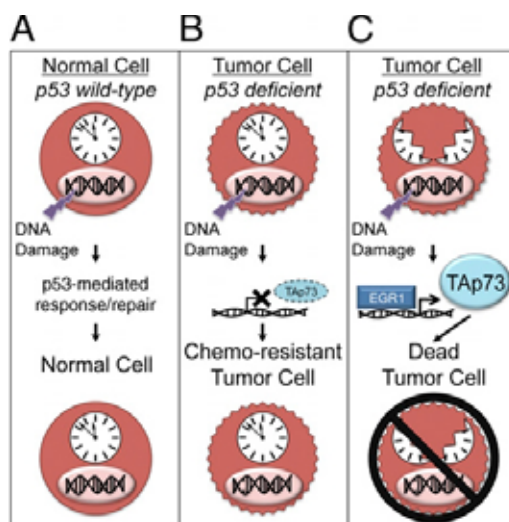
4.1. Experimentální studie

Experimentální studie se využívají k ověřování platnosti hypotéz. Výhodou těchto studií je možnost přesně určit podmínky studie a z velké části tak vyloučit další faktory, které by mohly výsledky studie ovlivnit. Pro zkoumání přesné funkce jednotlivých hodinových genů se využívá tkáňových kultur či zvířat, nejčastěji myši a potkanů, u kterých byl některý gen vyřazen z funkce (tzv. knock out). V laboratorních podmínkách je možné tato zvířata chovat v kontrolovaném režimu světla, teploty, přístupu k potravě a pod.

4.1.1. Regulace odpovědi na poškozenou DNA

Nejnovější studie ukázaly, že ztráta hodinových proteinů CRY1 a CRY2 může vést k apoptóze (Ramsey a Ellisen, 2011). Lee a Sancar prováděli pokusy s myšmi, u kterých byl proveden knock out genu pro p53, který působí ve zdravých buňkách jako antionkogen. Jeho ztráta či poškození je nejčastější příčinou nádorových onemocnění. Buňky, ve kterých byl navíc proveden knock out genu Cry, podléhaly apoptóze přes zánětlivé cytokiny jako je TNF α a IL1 β (Lee a Sancar, 2011). Zjistili, že CRY se podílí na regulaci genu TAp73, který má stejně jako p53

tumor supresorovou funkci a pomáhá udržovat integritu genomu. Ztráta CRY1 a CRY2 uvolňuje potlačení funkce komplexu CLOCK/BMAL1. To vede ke zvýšení transkripce Egr1 (early growth response 1), jehož navázání na promotor aktivuje transkripci TAp73. K aktivaci TAp73 je potřeba odstranění represoru z promotorové oblasti, k čemuž dochází při poškození DNA. TAp73 je tedy regulován jak cirkadiánními hodinami, tak poškozením DNA (Ramsey a Ellisen, 2011).



Obr. 6 – Citlivost p53-deficientních buněk k poškození DNA závislá na hodinových genech. A) V normálních buňkách s funkčním p53 je odpověď na poškození DNA zprostředkována primárně proteinem p53. B) Nádorové buňky, které postrádají p53, jsou rezistentní k chemoterapii působící přes poškození DNA. C) Nádorové buňky, které postrádají p53 i hodinové proteiny CRY1 a CRY2, mají vysokou hladinu Egr1. Egr1 se váže na promotor genu TAp73 a zvyšuje jeho aktivaci po poškození DNA, výsledkem je buněčná smrt (převzato z Ramsey a Ellisen, 2011).

4.1.2. Hodinový gen Per, jeho exprese a polymorfismus

Protože PER reaguje na poškození DNA a reguluje průchod buňky buněčným cyklem, jeho inaktivace nebo deregulace v nádorových buňkách způsobuje deregulaci buněčného cyklu a podporuje tak proliferaci těchto nádorových buněk (Chen a kol., 2005). Při sledování exprese PER v nádorové tkáni prsu bylo zjištěno, že deregulace cirkadiánních hodin může být důležitým faktorem při vzniku jak sporadického, tak dědičného karcinomu prsu, přičemž u dědičného karcinomu je exprese PER1 prokazatelně ještě nižší než u sporadického (Winter a kol., 2007). Porovnání exprese Per1 v buňkách zdravé prostaty, benigního nádoru, karcinomu a metastázujícího nádoru ukázalo, že v nádorových buňkách je jeho exprese prokazatelně nižší. Podobné sledování bylo provedeno s Per2. Dále bylo zjištěno, že Per1 inhibuje v prostatě růst

nádorových buněk. Dalším měřením exprese cílových genů androgenových receptorů bylo zjištěno, že Per1 přímou vazbou na androgenový receptor inhibuje jeho transkripční aktivitu. Na základě těchto výsledků byla vytvořena hypotéza, že aktivovaný androgenový receptor stimuluje transkripci Per1 a vzniká tak zpětnovazebná smyčka (Cao a kol., 2009). Ve zdravé prostatě myši byla pozorována pravidelná cirkadiánní rytmicita Per a deregulace tohoto rytmu například odstraněním SCN byla spojena se zrychleným růstem nádorové tkáně (Bebas a kol., 2009; Filipski a kol., 2002).

Chen a kol. (2005) zkoumal polymorfismus genu Per ve zdravých a nádorových buňkách pacientek s nádorovým onemocněním prsu. Našel 15 polymorfismů tohoto genu, z nichž 4 způsobily změnu aminokyseliny v proteinu, což ale na jeho funkci nemělo vliv. Souvislost mezi detekovaným polymorfismem a expresí nezjistili. Zaměřili se tedy na metylaci promotorové oblasti. Zjistili, že deregulace genu Per v nádorových buňkách není způsobena genetickou mutací, ale pravděpodobně právě methylocí v promotorové oblasti tohoto genu (Chen a kol., 2005).

Chu a kol. (2008) provedl v Číně populační studii, ve které se snažil vysledovat vztah mezi určitými variantami hodinových genů (Per1, Per3, Cry2, Npas2 – ortolog genu Clock) a rizikem nádoru prostaty. Zjistil, že existuje souvislost mezi alelovou variantou C genu Cry2, která riziko zvyšuje. Dalším zjištěním bylo, že toto riziko dál stoupá u mužů se zvýšenou inzulinovou rezistencí. Naopak u mužů s nízkou inzulinovou rezistencí a alelovou variantou A v genu Npas2 bylo riziko sniženo (Chu a kol., 2008).

4.2. Klinické studie

Experimentální data získaná na laboratorních zvířatech, obvykle nočních hlodavcích, je obtížné převést přímo na člověka, protože mezi člověkem a hlodavci existují rozdíly například v intenzitě světla postačující k potlačení produkce melatoninu (Hanifin a kol., 2006). Proto jsou souvislosti mezi poruchou cirkadiánního systému a výskytem různých onemocnění zkoumány v klinických studiích.

4.2.1. Teorie LAN

V roce 1978 Cohen a kol. přišli s teorií, že snížená produkce melatoninu zvyšuje riziko nádorového onemocnění prsu a jako možnou příčinu uvedli umělé noční osvětlení v industrializovaných zemích (Cohen a kol., 1978). Na základě jejich poznatků byla formulována teorie LAN (angl. light at night). Platnost této teorie se však velmi obtížně testuje,

protože není snadné najít kontrolní skupiny lidí, kteří by dlouhodobě nepoužívali umělé osvětlení. Bylo proto ustanoveno několik prognóz, na jejichž základě je možné tuto teorii testovat. Jsou to tato:

1. Riziko bude vyšší u lidí pracujících na jiné než denní směny.
2. U nevidomých žen bude riziko snižené.
3. Trvání spánku, jako náhrada tmy, bude nepřímo úměrné riziku.
4. Hladina nočního osvětlení v ložnici bude přímo úměrná riziku.
5. Studie na úrovni populací ukážou souvislost mezi mírou komunálního osvětlení a výskytem nádorů prsu.

Stevens v roce 2009 zkompletoval několik epidemiologických studií a dat ze základního výzkumu (Stevens, 2009). Podle jeho závěrů několik evropských a amerických studií potvrdilo, že u nevidomých žen je riziko nádoru prsu nižší než v běžné populaci (Kliukiene a kol., 2001; Hahn, 1991). O'Leary a kol. zjistil, že u žen, které během noci rozsvěčují dvakrát a vícekrát, je riziko vyšší (O'Leary a kol., 2006). Je ale nutné si uvědomit, že existuje mnoho nezanedbatelných faktorů jako je kouření, alkohol, délka kojení a další, které mohou výsledky těchto studií ovlivňovat.

4.2.2. Porucha synchronizace - volně běžící rytmus

K volně běžícímu rytmu dochází u nevidomých, kteří trpí ztrátou vnímání změny světla a tmy. Jejich cirkadiánní hodiny sice vytváří rytmický signál, ale nemohou být každý den synchronizovány denním světlem přes RHT. Tyto osoby bývají označovány jako tzv. „free runners“. Epidemiologické studie ukazují, že 50-75 % nevidomých se ztrátou vnímání světla trpí poruchami spánku způsobenými tím, že jejich biologické hodiny nejsou synchronizovány s vnějším dnem (Sack a kol., 1992; Tabandeh a kol., 1998). Perioda jejich vnitřních hodin se pohybovala mezi 24,2 a 24,9 hodiny, v průměru 24,5 hodiny (Sack a kol., 2000). To způsobilo, že se u nich střídá období, kdy a) je jejich vnitřní čas v souladu s denní dobou, b) je oproti denní době opožděn, c) je ve zcela opačné fázi, d) je oproti denní době předběhnut, e) nakonec je opět ve správné fázi. V důsledku toho se u těchto pacientů střídají období, kdy trpí syndromem opožděné a předběhnuté fáze spánku (Skene a Ardent, 2007). Volný běh byl pozorován u rytmu ve vyplavování melatoninu a kortisolu a ve změnách tělesné teploty (Nakagawa a kol., 1992). U lidí bez zrakového postižení se tato porucha vyskytuje jen velmi vzácně a její patofyziologie není doposud zcela jasná.

4.2.3. Jet lag

Jet lag, neboli pásmová nemoc, je v naší historii poměrně novým fenoménem. Projevuje se při rychlém přesunu do jiného časového pásma, což bylo umožněno teprve rozvojem letecké dopravy. Podobné příznaky jsou způsobeny při zaměstnání se střídavými směny. Dochází k dočasnému fázovému posunu vnitřních hodin vůči denní době (Arendt, 1998). Zároveň se vůči sobě desynchronizují cirkadiánní hodiny různých tkání, protože jejich schopnost přizpůsobit se novým podmínkám se liší. Několik studií ukázalo, že SCN se dokáže k odlišnému světelnému cyklu synchronizovat poměrně rychle, zatímco k synchronizaci jiných tkání, jako jsou například játra, je potřeba i déle než týden (Yamazaki a kol., 2000).

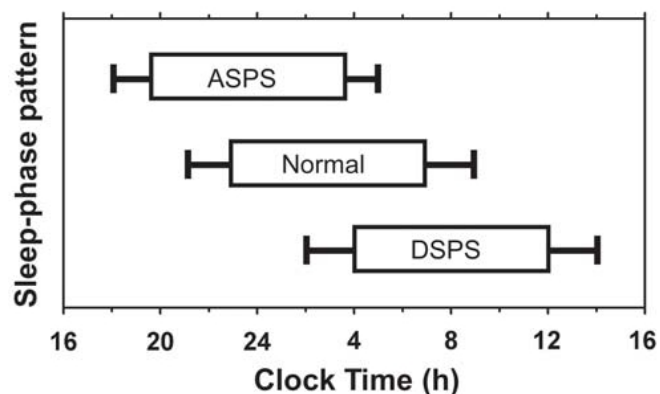
Mezi jedinci existují velké rozdíly v rychlosti adaptace na odlišné časové pásmo. Tolerance k nedostatku spánku během jet lag může souviset s polymorfismem hodinového genu Per3 (Arendt, 2009).

5. TERAPEUTICKÉ VYUŽITÍ

5.1. Fototerapie

Význam světla pro synchronizaci vnitřních hodin s vnějším prostředím byl zmíněn výše. Fototerapie, neboli léčba světlem, je jedním z nejjednodušších způsobů léčby některých cirkadiánních poruch. Nutným předpokladem je samozřejmě správná funkce RHT, takže u nevidomých, kteří nevnímají světlo, by byla fototerapie neúčinná.

Při zpožděné fázi spánku (z angl. „delayed sleep phase syndrome“, DSPS), kdy pacient usíná až v časných ranních hodinách a probouzí se před polednem, se používá fototerapie ráno po probuzení. Pacient se vystavuje jasnému světlu o síle 2 500-10 000 luxů na dobu 30 minut až 2 hodin. Ve večerních hodinách se musí pacienti vyhýbat silnému umělému světlu. Tyto principy byly prokázány ve studiích provedených na pacientech s DSPS, u kterých v důsledku aplikace světla v ranních hodinách došlo k fázovému předběhnutí rytmu tělesné teploty a časnějšímu nástupu spánku (Rosenthal a kol. 1990; Chesson a kol., 1999).



Obr. 7 – Doba spánku pacientů s předsunutou a zpožděnou fází spánku. ASPS, syndrom předsunuté fáze spánku, DSPS, syndrom zpožděné fáze spánku, Normal, normální rytmus spánku a bdění (převzato z Gooley, 2008).

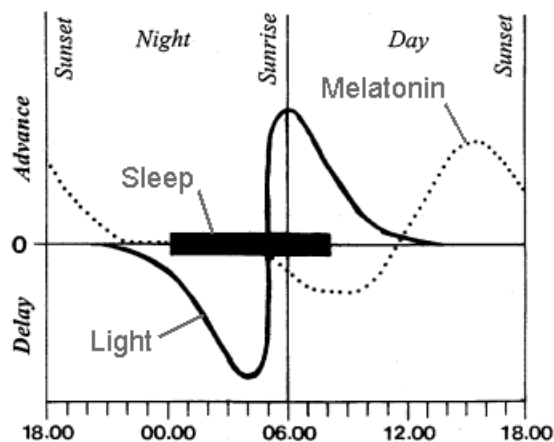
Předsunutá fáze spánku (z angl. „advance sleep phase syndrom“, ASPS) se projevuje ospalostí v odpoledních hodinách, pacienti usínají večer mezi 18:00 a 20:00 hodinou a budí se mezi 01:00 a 03:00 hodinou ranní. V rodinných anamnézách lidí trpících tímto syndromem byla zjištěna autosomálně dominantní dědičnost a bylo prokázáno, že ASPS je spojen s mutací hodinových genů, které určují délku periody cirkadiálního cyklu (Toh a kol., 2001; Xu a kol., 2005). Pro opoždění fáze cirkadiálních hodin těchto pacientů by se měla fototerapie provádět ve večerních hodinách těsně před usnutím. Ačkoliv je třeba více klinických studií, výsledky již nyní naznačují, že použití večerní fototerapie u pacientů trpících ranní insomnií může prodloužit dobu jejich spánku, zlepšit jeho kvalitu a zpozdit denní rytmus tělesné teploty a melatoninu přibližně o 2 hodiny (Lack a kol., 2005).

Fototerapie je také účinnou léčbou u pacientů trpících syndromem projevujícím se depresivními epizodami, které se objevují hlavně na podzim, kdy ubývá denního světla. Je známý jako sezónní afektivní porucha (SAD). Fototerapii u těchto pacientů je nutné provádět denně po dobu několika týdnů (např. Virk a kol., 2009).

5.2. Chronobiotika

Chronobiotika jsou látky, jejichž užívání ovlivňuje cirkadiální systém organismu. Jejich účinek je závislý na denní době podání. Z chemického hlediska to mohou být například indolaminy, peptidy a benzodiazepiny (Dawson a Armstrong, 1996). Nejznámějším chronobiotikem je melatonin. Jeho účinků se využívá při urychlení re-synchronizace cirkadiálního systému, jednak při přeletech přes časová pásma a tím ke zmírnění jet lag nebo při práci ve směnném provozu (Skene a kol., 1996). Používá se také v kombinaci s fototerapií, doba aplikace melatoninu a světla je však odlišná.

Účinek melatoninu při podání v určitou denní dobu ukazuje křivka PRC (z angl. phase response curve). Podání melatoninu v odpoledních hodinách cirkadiánní cyklus urychlí, naopak podáním v časných ranních hodinách se cirkadiánní cyklus zpozdí (Lewy, 2010).



Obr. 8 – PRC světla a melatoninu. PRC světla – plná čára, PRC melatoninu – tečkovaná čára (převzato z Lynch, 2008).

U nevidomých s volně běžícím rytmem, kteří nemohou být synchronizováni světlem přes RHT, je podávání chronobiotik jedinou možností, jak jejich cirkadiánní systém synchronizovat. Lockley a kol. (2000) provedli studii u skupiny nevidomých s volně běžícím rytmem, kterým byl pravidelně podáván melatonin. Měřili hodnoty 6-sulfatoxymelatoninu (metabolitu melatoninu) v moči, tělesnou teplotu a hladinu kortisolu v krvi po dobu 70 dní a prokázali, že pravidelné užívání melatoninu může jejich volně běžící rytmus synchronizovat (Lockley a kol., 2000).

5.3. Chronoterapie nádorových onemocnění

Chronoterapie spočívá v podávání léků v určitou denní dobu, kdy je zajištěna nejvyšší účinnost a nejnižší vedlejší nežádoucí účinky. Úspěšně se již využívá chronoterapie při podávání statinů, tj. léků na snížení hladiny cholesterolu. Statiny inhibují HMG-CoA reduktázu, která je limitujícím enzymem biosyntézy cholesterolu (Demierre a kol, 2005). Aktivita HMG-CoA reduktázy má cirkadiánní průběh s nejvyšší účinností v noci (Brown a kol., 1979). Statiny mají proto největší účinnost, pokud jsou podávány před spaním.

V současnosti se provádí studie, které zkoumají možnosti využití chronoterapie u nádorových onemocnění. Tyto studie vychází z poznatků, že buněčný cyklus nádorových buněk se fázově liší od buněčného cyklu zdravých buněk v těle. Je proto snahou podávat cytostatika

v denní dobu, kdy budou působit účinněji na nádorové buňky než na zdravé buňky organismu. Experimenty na animálních modelech prokázaly, že více než 30 protinádorových léků se liší v účinnosti a toxicitě o více než 50 % podle denní doby jejich podání (Lévi a kol., 2008). Klinické studie ukázaly, že léky jako 5-fluorouracil a komplexy platiny, které jsou specificky toxické pro replikující se buňky, jsou také účinnější při podávání v určitou denní dobu. U pacientek s nádorem vaječníku bylo dosaženo lepších výsledků ranním podáváním doxorubicinu a o 12 hodin později cisplatinu (Kobayashi a kol., 2002).

6. ZÁVĚR

Tato práce poukazuje na důležitost správného běhu a synchronizace cirkadiánního systému pro zdraví člověka a shrnuje některé dopady jeho poruchy na jeho zdraví, zvláště se zaměřením na vznik nádorových onemocnění. Každý člověk má své vnitřní hodiny v SCN nastaveny tak, že jejich perioda se liší od periody solárního dne. Aby v organismu udávaly správnou denní dobu, musí být pravidelně seřizovány s vnějším prostředím, a to především světlem. Periferní hodiny různých tkání jsou synchronizovány SCN, avšak na jejich řízení se podílí i další synchronizátory, kterými mohou být například teplota nebo přísun potravy. Ty jsou za normálních okolností také řízeny SCN a zároveň na SCN zpětně působí. Pokud však tyto faktory působí v jinou denní dobu, než jakou jim udávají hodiny v SCN, může dojít ke stavu vnitřní desynchronizace, kdy nejsou oscilátory v různých částech organismu vzájemně synchronizovány. Tento stav je v současnosti považován za jednu z možných příčin některých civilizačních chorob. Protože cirkadiánní rytmus se projevuje i v hladinách hormonů v těle, jeho narušení může být příčinou kardiovaskulárních onemocnění a metabolických poruch spojených s obezitou a diabetem. Znamená to, že pro zachování zdraví by měl být cirkadiánní systém přesně synchronizován nejen s denní dobou ale i v rámci jeho jednotlivých složek uvnitř našeho těla. Mnoha zdravotním problémům lze zřejmě předcházet dodržováním pravidelného denního režimu.

Přibývající studie zabývající se souvislostmi mezi nádorovými onemocněními a cirkadiánními rytmy otevírají nové pole pro vývoj přesně cílených léků ve spojení se správným načasováním jejich užívání vzhledem k denní době. Významné jsou i studie soustředěné na sociální skupinu lidí pracujících na střídavé směny, které mají za cíl najít vhodná opatření, jak alespoň zmírnit důsledky směnného provozu na zdraví člověka.

Chronobiologie je v současnosti rychle se rozvíjejícím oborem, stále však existuje mnoho nejasností a neprobádaných míst. Cirkadiánní systém proto představuje nové cíle mezioborového biomedicínského výzkumu do budoucnosti.

7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY:

- ABE, M., HERZOG, E. D., YAMAZAKI, S., STRAUME, M., TEI, H., SAKAKI, Y., MENAKER, M., BLOCK, G. D. 2002. Circadian rhythms in isolated brain regions. *Journal of Neuroscience*, 22, 350-356.
- ABRAHAMSON, E. E., LEAK, R. K., MOORE, R. Y. 2001. The suprachiasmatic nucleus projects to posterior hypothalamic arousal systems. *Neuroreport*, 12, 435-440.
- AKHTAR, R. A., REDDY, A. B., MAYWOOD, E. S., CLAYTON, J. D., KING, V. M., SMITH, A. G., GANT, T. W., HASTINGS, M. H., KYRIACOU, C. P. 2002. Circadian cycling of the mouse liver transcriptome, as revealed by cDNA microarray, is driven by the suprachiasmatic nucleus. *Current Biology*, 12, 540-550.
- ALBRECHT, U., EICHELE, G. 2003. The mammalian circadian clock. *Current Opinion in Genetics & Development*, 13, 271-7.
- ALBRECHT, U., ZHENG, B., LARKIN, D., SUN, Z. S., LEE, C. C. 2001. MPer1 and mper2 are essential for normal resetting of the circadian clock. *Journal of Biological Rhythms*, 16, 100-104.
- ALBUS, H., VANSTEENSEL, M. J., MICHEL, S., BLOCK, G. D., MEIJER, J. H. 2005. A GABAergic mechanism is necessary for coupling dissociable ventral and dorsal regional oscillators within the circadian clock. *Current Biology*, 15, 886-893.
- ARENDDT, J. 1998. Jet-lag. *Lancet*, 351, 293-294.
- ARENDDT, J. 2009. Managing jet lag: Some of the problems and possible new solutions. *Sleep medicine reviews*, 13, 249-256.
- ATON, S. J., COLWELL, C. S., HARMAR, A. J., WASCHEK, J., HERZOG, E. D. 2005. Vasoactive intestinal polypeptide mediates circadian rhythmicity and synchrony in mammalian clock neurons. *Nature Neuroscience*, 8, 476-83.
- ATON, S. J., HUETTNER, J. E., STRAUME, M., HERZOG, E. D. 2006. GABA and Gi/o differentially control circadian rhythms and synchrony in clock neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103, 19188-19193.
- BEBAS, P., GOODALL, C. P., MAJEWSKA, M., NEUMANN, A., GIEBULTOWICZ, J. M., CHAPPELL, P. E. 2009. Circadian clock and output genes are rhythmically expressed in extratesticular ducts and accessory organs of mice. *FASEB Journal*, 23, 523-533.
- BERNARD, S., GONZE, D., CAJAVEC, B., HERZEL, H., KRAMER, A. 2007. Synchronization-induced rhythmicity of circadian oscillators in the suprachiasmatic nucleus. *PLoS Computational Biology*, 3, e68.
- BROWN, M. S., GOLDSTEIN, J. L., DIETSCHY, J. M. 1979. Active and inactive forms of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase in the liver of the rat. Comparison with the rate of cholesterol synthesis in different physiological states. *The Journal of Biological Chemistry*, 254, 5144-5149.

- BROWN, S. A., ZUMBRUNN, G., FLEURY-OLELA, F., PREITNER, N., SCHIBLER, U. 2002. Rhythms of mammalian body temperature can sustain peripheral circadian clocks. *Current Biology*, 12, 1574-1583.
- BUIJS, R. M., KALSBECK, A. 2001. Hypothalamic integration of central and peripheral clocks. *Nature Reviews Neuroscience*, 2, 521-526.
- CAO, Q., GERY, S., DASHTI, A., YIN, D., ZHOU, Y., GU, J., KOEFFLER, H. P. 2009. A role for the clock gene *per1* in prostate cancer. *Cancer Research*, 69, 7619-7625.
- CHEN, S. T., CHOO, K. B., HOU, M. F., YEH, K. T., KUO, S. J., CHANG, J. G. 2005. Deregulated expression of the *PER1*, *PER2* and *PER3* genes in breast cancers. *Carcinogenesis*, 26, 1241-1246.
- CHEN, R., SEO, D. O., BELL, E., VON GALL, C., LEE, C. 2008. Strong resetting of the mammalian clock by constant light followed by constant darkness. *The Journal of Neuroscience*, 28, 11839-11847.
- CHESSON, A. L. Jr., LITTNER, M., DAVILA, D., ANDERSON, W. M., GRIGG-DAMBERGER, M., HARTSE, K., JOHNSON, S., WISE, M. 1999. Practice parameters for the use of light therapy in the treatment of sleep disorders. Standards of Practice Committee, American Academy of Sleep Medicine. *Sleep*, 22, 641-60.
- CHU, L. W., ZHU, Y., YU, K., ZHENG, T., YU, H., ZHANG, Y., SESTERHENN, I., CHOKKALINGAM, A. P., DANFORTH, K. N., SHEN, M. C., STANCZYK, F. Z., GAO, Y. T., HSING, A. W. 2008. Variants in circadian genes and prostate cancer risk: a population-based study in China. *Prostate Cancer Prostatic Diseases*, 11, 342-348.
- COHEN, M., LIPPMAN, M., CHABNER, B. 1978. Role of pineal gland in aetiology and treatment of breast cancer. *Lancet*, 2, 814-816.
- DAI J, SWAAB DF, VAN DER VLIET J, BUIJS RM. 1998. Postmortem tracing reveals the organization of hypothalamic projections of the suprachiasmatic nucleus in the human brain. *The Journal of Comparative Neurology*, 400, 87-102.
- DAWSON, D., ARMSTRONG, S. M. 1996. Chronobiotics – drugs that shift rhythms. *Pharmacology & therapeutics*, 69, 15-36.
- DAVIDSON, A. J., CASTANON-CERVANTES, O., LEISE, T. L., MOLYNEUX, P. C., HARRINGTON, M. E. 2009. Visualizing jet lag in the mouse suprachiasmatic nucleus and peripheral circadian timing system. *European Journal of Neurosciences*, 29, 171-180.
- DEMIERRE, M. F., HIGGINS, P. D., GRUBER, S. B., HAWK, E., LIPPMAN, S.M. 2005. Statins and cancer prevention. *Nature Reviews Cancer*, 5, 930-942.
- DUFFY, J. F., RIMMER, D. W., CZEISLER, C. A. 2001. Association of intrinsic circadian period with morningness-eveningness, usual wake time, and circadian phase. *Behavioral Neuroscience*, 115, 895-899.

- FILIPSKI, E., KING, V. M., LI, X., GRANDA, T. G., MORMONT, M. C., LIU, X., CLAUSTRAT, B., HASTINGS, M. H., LÉVI, F. 2002. Host circadian clock as a control point in tumor progression. *Journal of the National Cancer Institute*, 94, 690-697.
- FU, L., LEE, C.C. 2003. The circadian clock: pacemaker and tumour suppressor. *Nature Reviews Cancer*, 3, 350-361.
- GERY, S., KOMATSU, N., BALDJYAN, L., YU, A., KOO, D., KOEFFLER, H. P. 2006. The circadian gene *per1* plays an important role in cell growth and DNA damage control in human cancer cells. *Molecular Cell*, 22, 375-382.
- GOOLEY, J. J., SCHOMER, A., SAPER, C. B. 2006. The dorsomedial hypothalamic nucleus is critical for the expression of food-entrainable circadian rhythms. *Nature Neuroscience*, 9, 398-407.
- GOOLEY, J. J. 2008. Treatment of circadian rhythm sleep disorders with light. *Annals Academy of Medicine Singapore*, 37, 669-676.
- HAHN, R. A. 1991. Profound bilateral blindness and the incidence of breast cancer. *Epidemiology*, 2, 208-210.
- HANIFIN, J. P., STEWART, K. T., SMITH, P., TANNER, R., ROLLAG, M., BRAINARD, G. C. 2006. High-intensity red light suppresses melatonin. *Chronobiology International*, 23, 251-268.
- HANKINS, M. W., PEIRSON, S. N., FOSTER, R. G. 2008. Melanopsin: an exciting photopigment. *Trends in Neurosciences*, 31, 27-36.
- HANNIBAL, J. 2002. Neurotransmitters of the retino-hypothalamic tract. *Cell and Tissue Research*, 309, 73-88.
- HASTINGS, M. H., REDDY, A. B., MAYWOOD, E. S. 2003. A clockwork web: circadian timing in brain and periphery, in health and disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 4, 649-861.
- HATTAR, S., LIAO, H. W., TAKAO, M., BERSON, D. M., YAU, K. W. 2002. Melanopsin-containing retinal ganglion cells: architecture, projections, and intrinsic photosensitivity. *Science*, 295, 1065-1070.
- IKEDA, M., SUGIYAMA, T., WALLACE, C. S., GOMPF, H. S., YOSHIOKA, T., MIYAWAKI, A., ALLEN, C. N. 2003. Circadian dynamics of cytosolic and nuclear Ca²⁺ in single suprachiasmatic nucleus neurons. *Neuron*, 38, 253-263.
- INNOMINATO, P. F., FOCAN, C., GORLIA, T., MOREAU, T., GARUFI, C., WATERHOUSE, J., GIACCHETTI, S., COUDERT, B., IACOBELLI, S., GENET, D., TAMPELLINI, M., CHOLLET, P., LENTZ, M. A., MORMONT, M. C., LÉVI, F., BJARNASON, G. A. 2009. Chronotherapy Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer. Circadian rhythm in rest and activity: a biological correlate of quality of life and a predictor of survival in patients with metastatic colorectal cancer. *Cancer Research*, 69, 4700-4707.
- KARP, G. 2005. *Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments, 4th Edition*. Hoboken, NJ: John Wiley and Sons. 598-599 s. ISBN 0-471-16231-0

- KAYUMOV, L., CASPER, R. F., HAWA, R. J., PERELMAN, B., CHUNG, S. A., SOKALSKY, S., SHAPIRO, C. M. 2005. Blocking low-wavelength light prevents nocturnal melatonin suppression with no adverse effect on performance during simulated shift work. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90, 2755-2761.
- KLEIN, D.C. 2007. Arylalkylamine N-acetyltransferase: "the Timezyme". *The Journal of Biological Chemistry*, 282, 4233-4237.
- KLEVECZ, R. R., SHYMKO, R. M., BLUMENFELD, D., BRALY, P. S. 1987. Circadian gating of S phase in human ovarian cancer. *Cancer Research*, 47, 6267-6271.
- KLIUKIENE, J., TYNES, T., ANDERSEN, A. 2001. Risk of breast cancer among Norwegian women with visual impairment. *British Journal of Cancer*, 84, 397-399.
- KOBAYASHI, M., WOOD, P. A., HRUSHESKY, W. J. 2002. Circadian chemotherapy for gynecological and genitourinary cancers. *Chronobiology International*, 19, 237-251.
- KRIEGSFELD, L. J., LESAUTER, J., SILVER, R. 2004. Targeted microlesions reveal novel organization of the hamster suprachiasmatic nucleus. *Journal of Neuroscience*, 24, 2449-2457.
- KUBO, T., OZASA, K., MIKAMI, K., WAKAI, K., FUJINO, Y., WATANABE, Y., MIKI, T., NAKAO, M., HAYASHI, K., SUZUKI, K., MORI, M., WASHIO, M., SAKAUCHI, F., ITO, Y., YOSHIMURA, T., TAMAKOSHI, A. 2006. Prospective cohort study of the risk of prostate cancer among rotating-shift workers: findings from the Japan collaborative cohort study. *American Journal of Epidemiology*, 164, 549-555.
- LACK, L., WRIGHT, H., KEMP, K., GIBBON, S. 2005. The treatment of early-morning awakening insomnia with 2 evenings of bright light. *Sleep*, 28, 616-623.
- LEE, J. H., SANCAR, A. 2011. Regulation of apoptosis by the circadian clock through NF- κ B signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108, 12036-12041.
- LERNER, A. B., CASE, J. D., TAKAHASHI, Y., LEE, T. H., MORI, W. 1958. Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *Journal of the American Chemical Society*, 80, 2587.
- LEWY, A. J. 2010. Clinical implications of the melatonin phase response curve. *The Journal of endocrinology and metabolism*, 95, 3158-3160.
- LEWY, A. J., WEHR, T. A., GOODWIN, F. K., NEWSOME, D. A., MARKEY, S. P. 1980. Light suppresses melatonin secretion in humans. *Science*, 210, 1267-1269.
- LIEBERMAN, H. R., WALDHAUSER, F., GARFIELD, G., LYNCH, H. J., WURTMAN, R. J. 1984. Effects of melatonin on human mood and performance. *Brain Research*, 323, 201-207.
- LIU, A. C., LEWIS, W. G., KAY, S. A. 2007. Mammalian circadian signaling networks and therapeutic targets. *Nature Chemical Biology*, 3, 630-639.

- LOCKLEY, S. W., SKENE, D. J., JAMES, K., THAPAN, K., WRIGHT, J., ARENDT, J. 2000. Melatonin administration can entrain the free-running circadian system of blind subjects. *The Journal of Endocrinology*, 164, R1-6.
- LÉVI, F., ALTINOK, A., CLAIRAMBAULT, J., GOLDBETER, A. 2008. IMPLICATIONS OF CIRCADIAN CLOCKS FOR THE RHYTHMIC DELIVERY OF CANCER THERAPEUTICS. *PHILOSOPHICAL TRANSACTIONS. SERIES A, MATHEMATICAL, PHYSICAL, AND ENGINEERING SCIENCES*, 366, 3575-3598.
- LYNCH, R. Seasonality, biological rhythms and sleep.
<http://www.colorado.edu/intphys/Class/IPHY3730/image/melatonin.gif>
- MATSUO, T., YAMAGUCHI, S., MITSUI, S., EMI, A., SHIMODA, F., OKAMURA, H. 2003. Control mechanism of the circadian clock for timing of cell division in vivo. *Science*, 302, 255-259.
- MCGOWAN, C. H., RUSSELL, P. 1993. Human Wee1 kinase inhibits cell division by phosphorylating p34cdc2 exclusively on Tyr15. *The EMBO Journal*, 12, 75-85.
- MEIJER, J. H., SCHWARTZ, W. J. 2003. In search of the pathways for light-induced pacemaker resetting in the suprachiasmatic nucleus. *Journal of Biological Rhythms*, 18, 235-249.
- MIYAKE, S., SUMI, Y., YAN, L., TAKEKIDA, S., FUKUYAMA, T., ISHIDA, Y., YAMAGUCHI, S., YAGITA, K., OKAMURA, H. 2000. Phase-dependent responses of Per1 and Per2 genes to a light-stimulus in the suprachiasmatic nucleus of the rat. *Neuroscience Letters*, 294, 41-44.
- MOGA, M. M., MOORE, R. Y. 1997. Organization of neural inputs to the suprachiasmatic nucleus in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 389, 508-534.
- MOORE, R. Y. The New Neuroanatomy of Sleep-Wake Regulation. http://www.medscape.org/viewarticle/465494_2
- MOORE, R. Y., SPEH, J. C., LEAK, R. K. 2002. Suprachiasmatic nucleus organization. *Cell and Tissue Research*, 309, 89-98.
- NADER, N., CHROUSOS, G. P., KINO, T. 2010. Interactions of the circadian CLOCK system and the HPA axis. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 21, 277-286.
- NAKAMURA, W., YAMAZAKI, S., TAKASU, N. N., MISHIMA, K., BLOCK, G. D. 2005. Differential response of Period 1 expression within the suprachiasmatic nucleus. *The Journal of Neuroscience*, 25, 5481-5487.
- NAKAGAWA, H., SACK, R. L., LEWY, A. J. 1992. Sleep propensity free-runs with the temperature, melatonin and cortisol rhythms in a totally blind person. *Sleep*, 15, 330-336.
- OHI, R., GOULD, K. L. 1999. Regulating the onset of mitosis. *Current Opinion in Cell Biology*, 11, 267-273.
- OHTA, H., YAMAZAKI, S., MCMAHON, D. G. 2005. Constant light desynchronizes mammalian clock neurons. *Nature Neuroscience*, 8, 267-269.

- O'LEARY, E. S., SCHOENFELD, E. R., STEVENS, R. G., KABAT, G. C., HENDERSON, K., GRIMSON, R., GAMMON, M. D., LESKE, M. C. 2006. Electromagnetic Fields and Breast Cancer on Long Island Study Group. Shift work, light at night, and breast cancer on Long Island, New York. *American Journal of Epidemiology*, 164, 358-366.
- PARKER, L. L., PIWNICA-WORMS, H. 1992. Inactivation of the p34cdc2-cyclin B complex by the human WEE1 tyrosine kinase. *Science*, 257, 1955-1957.
- PEREZ-LEON, J. A., WARREN, E. J., ALLEN, C. N., ROBINSON, D. W., LANE BROWN, R. 2006. Synaptic inputs to retinal ganglion cells that set the circadian clock. *European Journal of Neuroscience*, 24, 1117-1123.
- PITTENDRIGH, C. S. 1981. Circadian systems: General perspective. In: Aschoff, J., ed. *Handbook of Behavioral Neurobiology. Volume 4. Biological Rhythms*. New York: Plenum Press, Chap. 5, 57-80.
- PITTENDRIGH, C. S. 1993. Temporal organization: reflections of a Darwinian clock-watcher. *Annual Review of Physiology*, 55, 16-54.
- PROVENCIO, I., RODRIGUEZ, I. R., JIANG, G., HAYES, W. P., MOREIRA, E. F., ROLLAG, M. D. 2000. A novel human opsin in the inner retina. *Journal of Neuroscience*, 20, 600-5.
- RAMSEY, M. R., ELLISEN, L. W. 2011. Circadian function in cancer: Regulating the DNA damage response. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108, 10379-10380.
- RANA, S., MAHMOOD, S. 2010. Circadian rhythm and its role in malignancy. *Journal of Circadian Rhythms*, 8, 3.
- REID, K. J., CHANG, A. M., ZEE, P. C. 2004. Circadian rhythm sleep disorders. *Medical Clinics of North America*, 88, 631-651.
- REITER, R. J., ROLLAG, M. D., PANKE, E. S., BANKS, A. F. 1978. Melatonin: reproductive effects. *Journal of Neural Transmission. Supplementa*, 13, 209-223.
- REPPERT, S. M., GODSON, C., MAHLE, C. D., WEAVER, D. R., SLAUGENHAUPT, S. A., GUSELLA, J. F. 1995. Molecular characterization of a second melatonin receptor expressed in human retina and brain: the Mel1b melatonin receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92, 8734-8738.
- REPPERT, S. M., WEAVER, D. R. 1995. Melatonin madness. *Cell*, 83, 1059-1062.
- REPPERT, S. M., WEAVER, D. R. 2002. Coordination of circadian timing in mammals. *Nature*, 418, 935-941.
- RICE, K. Biological rhythms 2.
http://www.integratedsociopsychology.net/Biological_Rhythms2/aboveopticchiasm.html
- ROSENTHAL, N. E., JOSEPH-VANDERPOOL, J. R., LEVENDOSKY, A. A., JOHNSTON, S. H., ALLEN, R., KELLY, K. A., SOUETRE, E., SCHULTZ, P. M., STARZ, K. E. 1990. Phase-shifting effects of bright morning light as treatment for delayed sleep phase syndrome. *Sleep*, 13, 354-361.

- ROTHBLUM-OVIATT, C. J., RYAN, C. E., PIWNICA-WORMS, H. 2001. 14-3-3 binding regulates catalytic activity of human Wee1 kinase. *Cell Growth & Differentiation*, 12, 581-589.
- SACK, R. L., BRANDES, R. W., KENDALL, A. R., LEWY, A. J. 2000. Entrainment of free-running circadian rhythms by melatonin in blind people. *The New England Journal of Medicine*, 343, 1070-1077.
- SACK, R. L., LEWY, A. J., BLOOD, M. L., KEITH, L. D., NAKAGAWA, H. 1992. Circadian rhythm abnormalities in totally blind people: incidence and clinical significance. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 75, 127-134.
- SCHERNHAMMER, E. S., LADEN, F., SPEIZER, F. E., WILLETT, W. C., HUNTER, D. J., KAWACHI, I., COLDITZ, G. A. 2001. Rotating night shifts and risk of breast cancer in women participating in the nurses' health study. *Journal of the National Cancer Institute*, 93, 1563-1568.
- SCHERNHAMMER, E. S., LADEN, F., SPEIZER, F.E., WILLETT, W. C., HUNTER, D. J., KAWACHI, I., FUCHS, C. S., COLDITZ, G. A. 2003. Night-shift work and risk of colorectal cancer in the nurses' health study. *Journal of the National Cancer Institute*, 95, 825-828.
- SCHIBLER, U., RIPPERGER, J., BROWN, S. A. 2003. Peripheral circadian oscillators in mammals: time and food. *Journal of Biological Rhythms*, 18, 250-260.
- SCHIBLER, U., SASSONE-CORSI, P. 2002. A web of circadian pacemakers. *Cell*, 111, 919-922.
- SKENE, D. J., DEACON, S., ARENDT, J. 1996. Use of melatonin in circadian rhythm disorders and following phase shifts. *Acta neurobiologiae experimentalis*, 56, 359-362.
- SKENE D. J., ARDENT, J. 2007. Circadian rhythm sleep disorders in the blind and their treatment with melatonin. *Sleep Medicine*, 8, 651-655.
- STEVENS, R. G. 2009. Light-at-night, circadian disruption and breast cancer: assessment of existing evidence. *International Journal of Epidemiology*, 38, 963-970.
- SUKUMARAN, S., ALMON, R. R., DUBOIS, D. C., JUSKO, W. J. 2010. Circadian rhythms in gene expression: Relationship to physiology, disease, drug disposition and drug action. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62, 904-917.
- TABANDEH, H., LOCKLEY, S. W., BUTTERY, R., SKENE, D. J., DEFRANCE, R., ARENDT, J., BIRD, A. C. 1998. Disturbance of sleep in blindness. *American Journal of Ophthalmology*, 126, 707-712.
- TAKAHASHI, J. S., HONG, H. K., KO, CH., MCDEARMON, E. L. 2008. The genetics of mammalian circadian order and disorder: implications for physiology and disease. *Nature Reviews Genetics*, 9, 764-775.
- TOH, K. L., JONES, C. R., HE, Y., EIDE, E. J., HINZ, W. A., VIRSHUP, D. M., PTÁČEK, L. J., FU, Y. H. 2001. An hPer2 phosphorylation site mutation in familial advanced sleep phase syndrome. *Science*, 291, 1040-1043.

- VIRK, G., REEVES, G., ROSENTHAL, N. E., SHER, L., POSTOLACHE, T. T. 2009. Short exposure to light treatment improves depression scores in patients with seasonal affective disorder: A brief report. *International Journal on Disability and Human Development*, 8, 283-286.
- VRANG, N., LARSEN, P. J., MIKKELSEN, J. D. 1995. Direct projection from the suprachiasmatic nucleus to hypophysiotrophic corticotropin-releasing factor immunoreactive cells in the paraventricular nucleus of the hypothalamus demonstrated by means of Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin tract tracing. *Brain Research*, 684, 61-69.
- WINTER, S. L., BOSNOYAN-COLLINS, L., PINNADUWAGE, D., ANDRULIS, I. L. 2007. Expression of the circadian clock genes Per1 and Per2 in sporadic and familial breast tumors. *Neoplasia*, 9, 797-800.
- WURTMAN, R. J. 1985. Melatonin as a hormone in humans: a history. *Yale Journal of Biology and Medicine*, 58, 547-552.
- WURTMAN, R. J., AXELROD, J., CHU, E. W. 1963. Melatonin, a pineal substance: effect on the rat ovary. *Science*, 141, 277-278.
- XU, Y., PADIATH, Q. S., SHAPIRO, R. E., JONES, C. R., WU, S. C., SAIGOH, N., SAIGOH, K., PTÁČEK, L. J., FU, Y. H. 2005. Functional consequences of a CK1delta mutation causing familial advanced sleep phase syndrome. *Nature*, 434, 640-644.
- YAMAZAKI, S., NUMANO, R., ABE, M., HIDA, A., TAKAHASHI, R., UEDA, M., BLOCK, G. D., SAKAKI, Y., MENAKER, M., TEI, H. 2000. Resetting central and peripheral circadian oscillators in transgenic rats. *Science*, 288, 682-685.
- YASUKOUCHI, A., HAZAMA, T., KOZAKI, T. 2007. Variations in the light-induced suppression of nocturnal melatonin with special reference to variations in the pupillary light reflex in humans. *Journal of physiological anthropology*, 26, 113-121.
- YOO, S. H., YAMAZAKI, S., LOWREY, P. L., SHIMOMURA, K., KO, CH., BUHR, E. D., SIEPKA, S. M., HONG, H. K., OH, W. J., YOO, O. J., MENAKER, M., TAKAHASHI, J. S. 2004. PERIOD2::LUCIFERASE real-time reporting of circadian dynamics reveals persistent circadian oscillations in mouse peripheral tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101, 5339-5346.