Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů

Eva Filipovská

Poruchy cirkadiánních rytmů u bipolárních depresí a jejich spojení s polymorfismem ve vápníkovém kanálu L-typu

The disruption of the circadian system in bipolar disorder and its association with the polymorphism of L-type calcium channel

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Zdeňka Bendová, Ph.D.

Praha, 2016

Poděkování

Poděkování patří zejména mojí školitelce RNDr. Zdeňce Bendové, Ph.D. za její čas a ochotu, s jakou se mi věnovala v průběhu psaní této práce. Dále děkuji své rodině a kamarádům za cenné rady a psychickou podporu.

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, 12.05.2016

Podpis:

Eva Filipovská

Abstrakt

Bipolární afektivní porucha je závažné psychiatrické onemocnění postihující přibližně 1% populace. Vyznačuje se výraznými změnami nálad, období mánie střídá období deprese, mezi nimi může být variabilně dlouhé období bez příznaků. Zasahuje do pacientova každodenního života, často vede k sebevražedným sklonům. U tohoto onemocnění se objevují poruchy cirkadiánních rytmů, řízených suprachiasmatickými jádry v hypotalamu. Na narušené cirkadiánní rytmy poukazují projevy choroby, jako jsou abnormality ve spánku i v denní aktivitě pacienta či v cirkadiánním řízení rytmické syntézy hormonů. Jedním z mnohých faktorů, které spojují bipolární poruchu s cirkadiánním systémem na molekulární úrovni, jsou napěťově závislé vápníkové kanály, konkrétně kanály L-typu. U mnoha pacientů trpících bipolární poruchou byl nalezen polymorfismus v genu pro α_1 podjednotku kanálu $Ca_v1.2$. Exprese těchto kanálů je řízena hodinovými geny a jejich správná funkce je důležitá pro udržování endogenních oscilací cirkadiánního oscilátoru v suprachiasmatických jádrech. Je tedy možné, že abnormální funkce těchto vápníkových kanálů v důsledku polymorfismu u pacientů s bipolární poruchou může být jednou z příčin cirkadiánních abnormalit, které provázejí toto psychiatrické onemocnění.

Klíčová slova: cirkadiánní systém, suprachiasmatická jádra, bipolární porucha, vápníkové kanály L-typu, CACNA1C, rs1006737

Abstract

Bipolar affective disorder is a serious psychiatric disease with prevalence of about 1% in general population. Typical symptoms are mood changes: manic periods are followed by depressions, with possible asymptomatic period of variable duration between them. It alters patient's everyday life and often leads to suicidal tendencies. Bipolar disorder is related to impaired circadian rhytms that are regulated from suprachiasmatic nuclei in hypothalamus. Impaired circadian rhytms in bipolar disorder are manifested by abnormalities of sleep and daily activity and by disrupted circadian secretion of several hormons. One of many factors that link bipolar disorder to circadian system at molecular level is the function of voltage-dependent calcium channels of L-type. Expression of these channels is regulated by the clock genes and their proper function is important for maintaining endogenous oscillations in the main oscillator located in suprachiasmatic nuclei. A common finding in patients with bipolar disorder is polymorphism of the gene for α_1 subunit of the $Ca_v1.2$ channel. Abnormal function of calcium channels, consequent to the polymorphism, may be one of the causes that alter circadian rhytms in bipolar disorder.

Key words: circadian system, suprachiasmatic nucleus, bipolar disorder, L-type calcium channels, CACNA1C, rs1006737

Seznam zkratek

SCN	suprachiasmatická jádra
VL SCN	ventrolaterální část suprachiasmatických jader
DM SCN	dorzomediální část suprachiasmtických jader
VIP	vazoaktivní intestinální polypeptid
GABA	kyselina γ-aminomáselná
GRP	gastrin releasing peptid
Per1,2,3	geny *Period 1,2,3*
RHT	retinohypothalamický trakt
NMDA receptory	N-methyl aspartátové receptory
CaMKII	Ca^{2+}/kalmodulin dependentní kináza II
CRE	cAMP-responsive element
CREB	protein vážící se na cAMP-responsive element
BP-I, BP-II	bipolární afektivní porucha I. typu, II. typu
EEG	elektroencefalografie
REM	Rapid-Eye Movement spánek
NREM	Non Rapid-Eye Movement spánek
SNP	jednonukleotidový polymorfismus

Obsah

1. **Úvod……1**
2. **Cirkadiánní systém……1**
   - **2.1 Obecný úvod……1**
   - **2.2 Melatonin……2**
   - **2.3 Molekulární mechanismus cirkadiánních rytmů ……4**
   - **2.4 Světelná synchronizace……4**
3. **Bipolární afektivní porucha……7**
4. **Cirkadiánní poruchy u bipolárních pacientů……9**
   - **4.1 Abnormality v hladinách cirkadiánně řízených hormonů……9**
   - **4.2 Spánkové abnormality……10**
5. **Role napěťově závislých vápníkových kanálů L-typu v SCN……12**
   - **5.1 Role kanálů L-typu ve spontánní elektrické aktivitě……12**
   - **5.2 Cirkadiánní regulace exprese kanálu $Ca_v1.2$……13**
   - **5.3 Vliv kanálů L-typu na indukci fázového posunu po světelném pulsu……14**
   - **5.4 Signalizace od L-kanálů ke genové expresi……14**
6. **Polymorfismus v genu pro podjednotku kanálu $Ca_v1.2$ u pacientů s BP……15**
   - **6.1 Změny v mozkové aktivitě asociované s polymorfismem rs1006737……16**
   - **6.2 Vliv polymorfismu na expresi a funkci vápníkového kanálu $Ca_v1.2$……18**
   - **6.3 Souvislost kanálu $Ca_v1.2$ s účinky lithia……18**
7. **Závěr……19**
8. **Literatura……21**

1. Úvod

Cirkadiánní systém je vrozený endogenní mechanismus vyskytující se napříč všemi organismy. Také v našem těle udává rytmicitu mnoha fyziologickým pochodům. Narušení cirkadiánních rytmů bylo popsáno u bipolární afektivní poruchy, závažného psychiatrické onemocnění. Jakým způsobem souvisí narušení endogenních rytmů s touto chorobou, není zcela objasněno. Jedno z možných vysvětlení se může týkat výskytu polymorfismu v podjednotce vápníkových kanálů L-typu a z něj plynoucí nesprávné funkce těchto kanálů u bipolárně nemocných pacientů.

2. Cirkadiánní systém

2.1 Obecný úvod

V každém organismu se vyskytuje vrozený sebeudržující systém vnitřních hodin, který vykazuje endogenní rytmicitu. Tyto rytmy, pokud nejsou ovlivňovány faktory z vnějšího prostředí, takzvaně volně běží v čase. Mají periodu přibližně 24 hodin, odtud název cirkadiánní – *circa diem* – přibližně den. U člověka je délka cirkadiánní periody okolo 24,3 hodin (Carskadon et al. 1999). Za normálních podmínek v přirozeném prostředí je tato endogenní perioda nastavována na přesných 24 hodin vnějšími faktory, tzv. zeitgebery (Aschoff 1958), z nichž nejvýznamnější je cyklus světla a tmy během dne a noci (Pittendrigh 1960). Existují i další zeitgebery, jako je příjem potravy (Mendoza 2007), sociální interakce (Mrosovsky 1988) a teplota (Brown et al. 2002). Hlavním cirkadiánním pacemakerem v našem těle jsou suprachiasmatická jádra (SCN) umístěná ve ventrálním hypotalamu. Ta synchronizují periferní hodiny objevující se ve většině buněk našeho těla. Funkci SCN potvrzuje skutečnost, že myši s lézí v SCN nevykazují cirkadiánní rytmicitu, například ztrácí rytmus v pohybu a příjmu potravy (Stephan & Zucker 1972) nebo v syntéze kortikosteronu (Moore & Eichler 1972). Transplantací fetálního SCN do mozku myši s nefunkčními SCN je možné cirkadiánní rytmicitu obnovit (Drucker-Colín et al. 1984).

SCN ovlivňují neuronální i endokrinní cestou ostatní oblasti mozku a periferní orgány. Tím synchronizují hodiny v jednotlivých buňkách i rytmické změny ve fyziologické aktivitě tkání.

Nejvýraznější rytmus regulovaný ze SCN je cyklus spánku a bdění. SCN také regulují rytmickou sekreci hormonů, například melatoninu a kortizolu (Edwards et al. 2001), příjem potravy a tělesnou teplotu (Dibner et al. 2010). Tyto faktory přispívají k synchronizaci rytmů v buňkách na periferii a zároveň mohou zpětně ovlivňovat rytmy v SCN (Mavroudis et al. 2012; Le Minh et al. 2001; Golombek & Rosenstein 2010).

SCN jsou složena ze dvou odlišných oblastí, tzv. „core“ - ventrolaterární části (VL SCN), a „shell“ - dorsomediální části (DM SCN). VL SCN obsahuje neurony produkující vazoaktivní intestinální polypeptid (VIP), gastrin-releasing peptid (GRP) a kyselinu γ-aminomáselnou (GABA). Neurony v DM SCN produkují arginin vazopresin (AVP) a GABA (Vasalou & Henson 2011). Světelný signál je ze sítnice oka veden pouze do VL SCN (Hendrickson et al. 1972). V DM SCN se vytvářejí endogenní oscilace, které jsou ovlivněny světelnými podmínkami zprostředkovaně, díky signálům z VL SCN (Moore et al. 2014; Vasalou & Henson 2011). DM SCN je zodpovědné za synchronizaci hodin v ostatních oblastech mozku a periferních hodinách ve zbytku těla, neboť z nich vychází většina eferentních drah (Evans et al. 2015). Do SCN nevstupují pouze dráhy ze sítnice, ale také z některých dalších oblastí mozku, jako jsou intergenikulátní lístek talamu spojený s SCN genikulohypotalamickým traktem (GHT) nebo raphe nuclei (Golombek & Rosenstein 2010).

Každý z neuronů SCN představuje autonomní oscilátor, který vykazuje individuální rytmus. Experimenty s disociovanými primárními kulturami *in vitro* ukázaly, že jednotlivé buňky rytmují s odlišnými fázemi (Welsh et al. 1995). K jejich synchronizaci, která povede k jednotnému výstupnímu rytmu celé populace, jsou nutné vzájemné interakce neuronů pomocí synapsí a mediátorů. Mechanismus této interakce zahrnuje mediátory, jako jsou VIP, GABA, GRP a oxid dusnatý (NO) (Maywood et al. 2006; Shirakawa et al. 2000; Plano et al. 2007).

2.2 Melatonin

Velkou roli v cirkadiánním systému člověka, zejména v regulaci cyklu spánku a bdění, hraje hormon melatonin. Melatonin je triviální název pro chemickou látku *N*-acetyl-5-methoxytryptamin. Je syntetizován v glandula pinealis (také epifýza, šišinka) z tryptofanu, který je vychytáván z krevního oběhu (Claustrat et al. 2005). Poté je konvertován na serotonin a díky

enzymům arylalkylamin N-acetyltransferáze a hydroxyindol-O-methyltransferáze přeměněn na melatonin. Suprachiasmatické jádro řídí rytmus exprese enzymů, zejména N-acetyltransferázy, prostřednictvím multisynaptické aktivace cervikálních sympatických ganglií, které, na základě stimulů z SCN, vylučují v noci noradrenalin. Ten působí na β-adrenergní receptory na pinealocytech epifýzy a aktivovaná signální kaskáda vede k indukci transkripce genu pro arylalkylamin N-acetyltransferázu (Klein & Moore 1979; Klein 1985). Výsledkem je zvýšená syntéza melatoninu v průběhu tmavé části dne, jejíž rytmus přesně kopíruje délku noci. Melatonin nám takto zprostředkuje informaci o fotoperiodě a díky tomu i informaci o aktuální roční době, důležitou zejména pro sezónně se rozmnožující organismy (Russel J. Reiter 1991).

Syntetizovaný melatonin je ihned po syntéze vylučován do krve, odkud se může dostat ke všem tělesným tkáním a díky schopnosti překonat hematoencefalickou bariéru i zpět do mozku (R. J. Reiter 1991; Le Bars et al. 1991). Působí přednostně přes dva typy membránově vázaných receptorů – MT1 a MT2 (Reppert et al. 1996). Oba tyto receptory jsou spřažené s G proteinem a oba jsou přítomny v SCN. Jejich aktivace má ale odlišné účinky na fyziologii SCN. Výzkum pomocí jejich vyřazení u transgenní myši odhalil, že aktivace receptoru MT1 inhibuje elektrickou aktivitu neuronů v SCN. Navázáním melatoninu na MT2 receptor dojde k posunu fáze cirkadiánního systému v SCN (Liu et al. 1997; Jin et al. 2003), způsobuje jeho předběhnutí, a to při stmívání i rozednění (Hunt et al. 2001).

Melatonin je pro člověka známý zejména jako „hormon spánku“. Usnadňuje usínání například vazbou na melatoninové receptory MT2 v periferních cévách, což způsobí periferní vazodilataci (Tunstall et al. 2011) a pokles tělesné teploty (Strassman et al. 1991). Působení světla v noci, přirozeného i umělého, výrazně a rychle snižuje syntézu N-acetyltransferázy, a tedy i syntézu melatoninu (Klein & Weller 1972; Lewy et al. 1980). Největší efekt na potlačení syntézy melatoninu má modrá složka světelného spektra, která odpovídá délce 446 až 477 nm (Brainard et al. 2001). Modrá složka je výrazně zastoupena v elektronických zdrojích světla, jako jsou televize, tablety, počítače a mobilní telefony, jejichž užívání v noci snižuje přirozeně vysokou hladinu melatoninu, což může v průběhu života přispět k rozvoji celé řady nemocí, včetně spánkových poruch (Figueiro et al. 2011; Wood et al. 2013).

2.3 Molekulární mechanismus cirkadiánních rytmů

Cirkadiánní rytmus je na molekulární úrovni zajištěn systémem zpětnovazebných, pozitivních a negativních, smyček genů a jejich proteinových produktů. Tyto oscilace probíhají s cirkadiánní periodou přibližně 24 hodin ve většině buněk každého organismu (Sakamoto et al. 1998; Balsalobre et al. 2000).

Hlavní smyčku zajišťují proteiny CLOCK a BMAL1, které spolu tvoří heterodimer. Fungují jako transkripční faktory, váží se na E-boxy v promotorech genů *Period* (*Per1, Per2, Per3*) a *Cryptochrome* (*Cry1, Cry2*) a tím aktivují jejich transkripci (Gekakis et al. 1998). Proteinové produkty PER a CRY tvoří v cytoplasmě heterodimery, které putují zpět do jádra a interakcí s CLOCK-BMAL1 inhibují svoji vlastní transkripci (Shearman et al. 2000).

Vedlejší smyčka zahrnuje regulaci transkripce genu *Bmal1*. Je zajišťována orphánovými jadernými receptory Rev-erbα, které inhibují transkripci *Bmal1*, a Rorα, které aktivují transkripci Bmal1. Oba působí přes ROR element (RORE) v promotoru *Bmal1* (Sato et al. 2004). Exprese Rev-erbα je naopak aktivována dimerem CLOCK-BMAL1 (Preitner et al. 2002).

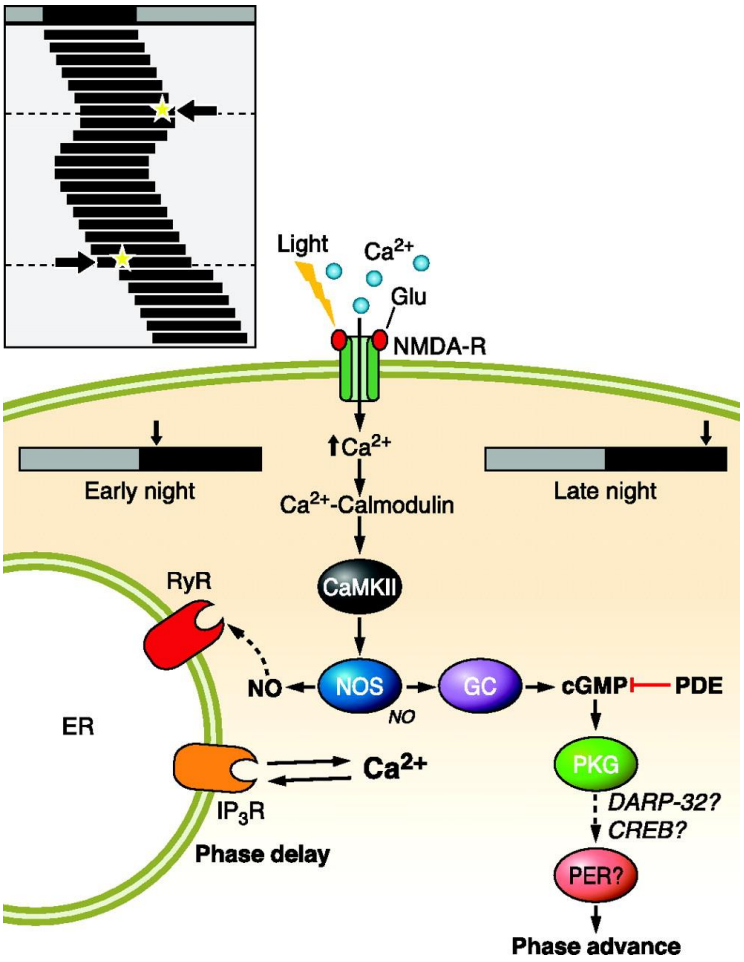
Důležitou roli v regulaci periody cirkadiánního rytmu hrají posttranslační modifikace, jako je fosforylace kasein kinázou I epsilon (CKIε), která fosforyluje PER1 a PER2 proteiny a tím ovlivňuje jejich stabilitu. Díky fosforylaci dochází k ubiquitinylaci a následné degradaci proteinu v proteasomu. To je jeden z mechanismů, jakým se reguluje délka cirkadiánní periody (Eide et al. 2005). Mutace v genu pro CKIε způsobuje zkrácení periody a u člověka indukuje poruchu, která byla popsána jako „Familial advanced sleep phase syndrome“ (Toh et al. 2001). Kináza GSK3β fosforylací naopak stabilizuje jaderný receptor REV-ERBα (Yin et al. 2006).

2.4 Světelná synchronizace

Endogenní cirkadiánní perioda generovaná molekulárním mechanismem musí být přizpůsobená přesné 24 hodinové periodě působením světla. V modelových experimentech se mechanismus světelné synchronizace studuje pomocí krátkých světelných impulsů aplikovaných v průběhu cirkadiánního dne. Vystavení světlu během subjektivní noci, na rozdíl od subjektivního dne, vede

k fázovému posunu cirkadiánních rytmů. V počátku subjektivní noci vede k fázovému zpoždění, v pozdní subjektivní noci naopak k fázovému předběhnutí (Daan & Pittendrigh 1976).

Světlo je zachycováno speciální skupinou gangliových buněk v sítnici obsahujících fotopigment melanopsin (Lucas et al. 2001), které se po přijetí světla depolarizují a jejich axony vedou informaci o světle do SCN (Hattar et al. 2002; Berson et al. 2002). Toto monosynaptické spojení se nazývá retinohypothalamický trakt (RHT) (Moore & Lenn 1972) a jeho hlavními mediátory jsou glutamát a tzv. pituitary adenylate cyclase-activating peptid (PACAP) (Hannibal et al. 2000). Oba fázové posuny jsou způsobeny světlem indukovaným výlevem glutamátu z RHT na synapsi s neurony ve VL SCN, kde glutamát působí zejména na N-methyl aspartátové (NMDA) receptory, což vede ke zvýšení intracelulární koncentrace vápníku (Colwell 2001). Aktivace NMDA receptorů spouští odlišné signální procesy v závislosti na čase stimulace (obr. 1). V brzké subjektivní noci spouští Ca^{2+}-indukovaný výlev Ca^{2+} přes ryanodinový receptor z endoplasmatického retikula (ER), které představuje hlavní zásobárnu vápníkových iontů v buňce (Ding et al. 1998). Podle některých výzkumů může být výlev Ca^{2+} iontů z ER zprostředkován přes inositoltrifosfátový receptor (Hamada et al. 1999). Pro fázový posun v pozdní subjektivní noci byl navržen následující mechanismus: Ca^{2+} ionty aktivují Ca^{2+}/kalmodulin dependentní kinázu II (CaMKII), která fosforyluje NO syntázu. Ta prostřednictvím syntézy NO zvyšuje aktivitu guanylát cyklázy, která indukuje zvýšení cyklického guanosinmonofosfátu (cGMP) v buňce, který aktivuje cGMP dependentní protein kinázy (PKG) (Ding et al. 1994; Mathur et al. 1996; Agostino et al. 2004). Byly ale nalezeny další složky, podílející se na fázovém posunu, jako jsou MAP kinázy (mitogen-activated protein kinázy) (Wu et al. 2001). Je možné, že existuje více signálních mechanismů, které se podílejí na regulaci transkripce vedoucí k fázovému posunu cirkadiánního mechanismu.



Obr. 1: *Intracelulární signální kaskády aktivované světelným pulsem a výlevem glutamátu na synapsi s neuronem SCN v subjektivní noci. Horní obrázek schematicky ukazuje záznam pohybové aktivity potkana a hvězdičky vyznačují dobu aplikace světelného pulsu. Spodní obrázek znázorňuje možné signální kaskády, které vedou k fázovému zpoždění a k fázovému předběhnutí cirkadiánních rytmů. Převzato z Golombek a Rosenstein „Physiology of Circadian Entrainment", 2010.*

Aktivace kináz obou signálních kaskád vede k fosforylaci transkripčního faktoru CREB (cAMP-responsive element binding protein) na Ser^{133}, který se váže na cAMP-responsive element (CRE) v promotoru *Per* genů a spouští jejich transkripci (Obrietan et al. 1999; Ginty et al. 1993). Tento mechanismus transkripční aktivace probíhá v noci, v době, kdy je cirkadiánní systém citlivý na světelný puls, a je nezávislý na heterodimeru CLOCK-BMAL1 (Travnickova-Bendova et al. 2002), který indukuje *Per* mRNA ve světlé části dne. Indukcí exprese *Per* genů

v noční době je tedy změněna dynamika celé transkripčně-translační smyčky a zajištěn tak fázový posun hodin v SCN. Význam *Per1* pro indukci fázových posunů byl prokázán například experimentem, ve kterém byly přidány antisense oligonukleotidy k *Per1* mRNA do třetí mozkové komory nebo ke kultuře *in vitro* a tím byl zrušen světlem nebo glutamátem indukovaný fázový posun (Akiyama et al. 1999). Světelné pulsy také indukují některé mechanismy, které usnadňují expresi *Per* genů, z nichž nejznámnější je světlem indukovaná modifikace histonů H3, která vede k dekondenzaci chromatinu a napomáhá tak transkripci (Crosio et al. 2000).

3. Bipolární afektivní porucha

Bipolární porucha (také bipolární deprese, maniodepresivní psychóza) je psychiatrické onemocnění, které patří do skupiny afektivních poruch. Vyznačuje se především střídáním období výrazně změněných nálad. Období deprese střídá období mánie či hypománie. Mezi nimi může nastat období bez příznaků – období remise, euthymie. Období mánie trvá minimálně týden, nemocný má velmi dobrou nebo podrážděnou náladu kombinovanou s několika dalšími příznaky, jako je zrychlená řeč, zrychlený tok myšlenek, roztěkanost, zvýšená aktivita nebo neklid, snížená potřeba spánku, zvýšené sebehodnocení, ztráta sociálních zábran, hypersexualita a impulzivní, často riskantní chování, které vede například k neuváženým finančním výdajům. Hypománie je lehčí forma mánie. Trvá kratší dobu a obvykle nevede k výrazným zásahům do pacientova života. V období deprese má pacient depresivní náladu, je unavený, má málo energie, objevuje se insomnie nebo hypersomnie, přes den psychomotorický neklid nebo naopak zpomalenost. Pacient v depresi přestává mít zájem o věci kolem sebe, může mít pocit bezcennosti a neodůvodněné viny, sníženou schopnost soustředění, přemýšlení a rozhodování, zabývá se smrtí a může mít sebevražedné tendence. Existuje i období vykazující příznaky obou nálad – smíšená epizoda (Barnett & Smoller 2009; Association 2013).

Podle Diagnostického a statistického manuálu duševních poruch (DSM-5) existují následující poruchy bipolárního spektra; bipolární porucha typu I (BP-I), při které pacient kromě depresivních epizod zažije alespoň jednu manickou nebo smíšenou epizodu v průběhu života. U bipolární poruchy typu II (BP-II) se neobjevuje období mánie, ale alespoň jedna hypománie, a depresivní epizody, které jsou stejně závažné nebo závažnější než u BP-I. Epizody se mohou velmi lišit trváním, u poruch s rychlým cyklováním se během jednoho roku vystřídají minimálně

čtyři různá období. Existuje i střídání nálad během několika dní (ultrarychlé cyklování) a dokonce během jednoho dne (ultradiánní cyklování) (Tillman & Geller 2003). Mezi poruchy bipolárního spektra dále patří cyclothymická porucha, při které se minimálně po dobu dvou let objevují mírnější hypomanické i depresivní symptomy s častějším cyklováním. Poslední typ, nespecifikovaná bipolární porucha, se vyznačuje symptomy podobnými mánii i depresi, ale nesplňuje kritéria pro jednoznačnou diagnózu žádné z epizod (Phillips & Kupfer 2013; Association 2013). Některá léčiva (např. antidepresiva) mohou při nesprávném podání navodit stavy podobné mánii (Peet 1994).

Prevalence bipolární poruchy je přibližně 0,6% populace pro BP-I, 0,4% pro BP-II, 1,4% pro pacienty s mírnými příznaky BP a 2,4% pro ostatní poruchy bipolárního spektra (Merikangas et al. 2011). Onemocnění ohrožuje muže i ženy stejnou měrou (Merikangas et al. 2007). Věk nástupu choroby se může značně lišit. Průměrný věk se dá rozdělit do tří skupin; tzv. brzký nástup nemoci se objevuje okolo 17 let, další bývá okolo 25 let, a okolo 40 let se objevuje bipolární porucha s tzv. pozdním nástupem (Ortiz et al. 2011; Bellivier et al. 2003). Průměrný věk začátku nemoci se mírně liší u pacientů v Evropě a v USA. Ve Spojených státech je vyšší procento brzkého nástupu choroby v nižším věku (Bellivier et al. 2014). Brzký nástup je spojován s horším průběhem onemocnění, rychlým cyklováním, současným výskytem úzkostných poruch, alkoholismu a častějšími sebevražednými sklony než u nástupu v dospělosti (Holtzman et al. 2015; Ortiz et al. 2011).

Bipolární porucha je vysoce dědičné onemocnění, míra dědičnosti je odhadována až na 85% (McGuffin et al. 2003). Jeho genetické příčiny se zřejmě částečně překrývají s příčinami schizofrenie (Lichtenstein et al. 2009). Kromě genetických predispozic hrají roli i vnější faktory. Fyzické, sexuální i verbální zneužívání v dětském věku bylo asociováno s dřívějším nástupem a horším průběhem choroby (Post et al. 2015). Také užívání marihuany hraje roli v dřívějším nástupu tohoto onemocnění (Lagerberg et al. 2014). Vliv na dobu začátku onemocnění může mít i vystavení pacienta světlu brzy po narození. Více hodin světla v prvních měsících života bylo asociováno s pozdnějším nástupem choroby, zřejmě z důvodu menší náchylnosti k cirkadiánním poruchám v pozdějším věku (Bauer et al. 2015).

Až 30% nemocných se za svůj život pokusí o sebevraždu, což je dvojnásobně víc než u pacientů s unipolární depresí (Chen & Dilsaver 1996). U vysokého procenta nemocných se vyskytují také úzkostné poruchy a problémy s alkoholismem. Současný výskyt bipolární deprese a některého z těchto problémů zvyšuje pravděpodobnost pokusu o sebevraždu (Oquendo et al. 2010; Simon et al. 2004). Onemocnění výrazně narušuje pacientův pracovní i sociální život, rodinné vztahy a trávení volného času (Calabrese et al. 2003). Bipolární porucha je často špatně diagnostikována a zaměněna za unipolární depresi, což vede k neúčinné léčbě nebo dokonce k léčbě zhoršující toto onemocnění (Bowden 2001).

4. Cirkadiánní poruchy u bipolárních pacientů

Na souvislost mezi bipolární depresí a poruchami v cirkadiánní rytmicitě poukazuje celá řada klinických pozorování. U pacientů jsou zaznamenány abnormality v cyklu spánku a bdění a v syntéze hormonů, které jsou řízeny cirkadiánním systémem. Cirkadiánní rytmy mají obecně u bipolárních pacientů nižší amplitudu než u zdravých lidí. Bipolárně depresivní mají nižší amplitudu v rytmu pohybové aktivity a nízké amplitudy byly nalezeny i v rytmu exprese některých hodinových genů v buňkách periferních tkání (Bullock & Murray 2014; Yang et al. 2009). Amplituda také klesá s délkou trvání choroby a se závažností jejích symptomů (Grierson et al. 2016). V současné době není zcela jasné, zda jsou cirkadiánní poruchy jednou z příčin vypuknutí nemoci, nebo její klinický projev.

4.1 Abnormality v hladinách cirkadiánně řízených hormonů

U pacientů trpících bipolární poruchou byla zaznamenána obecně nižší hladina melatoninu v obou fázích nemoci, i v remisi (Nurnberger et al. 2000). Ve srovnání s pacienty trpícími unipolární depresí měli bipolární pacienti nejen nižší hladiny, ale také pozdější nástup melatoninu v noci (Robillard et al. 2013). Další výzkum naměřil jiné hodnoty. Hladiny melatoninu ve slině byly rozdílné v obou fázích bipolární poruchy; během mánie pacienti vykazovali zvýšený melatonin přes den, zatímco profil rytmu melatoninu u depresivních a zdravých pacientů se nelišil (Nováková et al. 2015). Několik prací se zaměřilo také na zvýšenou citlivost produkce melatoninu na světlo během noci. U bipolárních pacientů v remisi byl nalezen dvakrát větší

pokles melatoninu ve srovnání se zdravými kontrolami (Lewy et al. 1985) a byla dokonce popsána dědičnost této zvýšené citlivosti u potomků s bipolárně depresivními rodiči (Nurnberger et al. 1988). Jiný výzkum ale tento nález nepodpořil (Nurnberger et al. 2000).

Abnormality byly nalezeny i v sekreci jiných cirkadiánně řízených hormonů. Byla například popsána vyšší sekrece kortizolu během dne a jeho vyšší nárůst po probuzení u pacientů v remisi než u kontrol (Deshauer et al. 2003). Vyšší noční hladiny kortizolu byly také naměřeny u manických pacientů (Linkowski et al. 1994). Vyšší hladiny během období mánie byly patrné i u luteinizačního hormonu a prolaktinu (Whalley et al. 1985). U depresivních pacientů byl zaznamenán snížený nárůst tyreotropního hormonu v noci a naopak zvýšená noční teplota, což možná souvisí i se spánkovými potížemi v tomto období (Souetre et al. 1988).

4.2 Spánkové abnormality

Změny v elektrické aktivitě mozku během spánku se dají zaznamenat pomocí elektroencefalografie (EEG), která dokáže rozlišit dvě střídající se fáze spánku – REM (Rapid eye movement) a NREM (Non-rapid eye movement). REM fáze spánku se vyznačuje očními pohyby, intenzivním sněním a vyšší mozkovou aktivitou. NREM spánek tvoří většinu doby spánku, dělí se do čtyř fází s rozdílnými EEG parametry. Není zde oční pohyb ani vizualizovaná snová aktivita, mozková aktivita je nižší. Delta spánek se vyskytuje ve fázi NREM spánku a je známý jako hluboký spánek (McCarley 2007). Na regulaci delta spánku se pravděpodobně podílí SCN, neboť u myší s lézí v SCN byl zaznamenán výrazně nižší delta spánek (Trachsel et al. 1992).

Bipolárně depresivní pacienti vykazují spánkové abnormality ve fázích mánie, deprese, a dokonce i v bezpříznakové euthymické fázi. Změny ve stavbě spánku, jako je trvání spánku, čas usnutí, čas probuzení a změny v rozložení REM a NREM spánku se obvykle objevují ještě před nástupem epizody (Leibenluft et al. 1996). Dá se podle nich předpovědět přicházející změna nálady, která může nastat až několik týdnů po zaznamenané spánkové změně (Perlis et al. 1997) nebo také již následující den. S blížící se změnou nálady se změny ve spánku stávají intenzivnější (Bauer et al. 2006). V manickém stavu platí, že se zkracujícím se spánkem pacienta se stupňuje i manická nálada a hyperaktivita následující den (Barbini et al. 1996). V mánii vykazuje naprostá většina pacientů sníženou potřebu spánku (Hudson et al. 1988), v depresivní epizodě trpí

pacienti insomnií či hypersomnií (Harvey 2008). Euthymičtí pacienti s bipolární poruchou vykazují v 70% příznaky insomnie s následnou sníženou denní aktivitou (Harvey et al. 2005). Spánkové poruchy mají dopad na kvalitu života pacientů. V důsledku spánkových potíží jsou pacienti málo aktivní přes den, cítí se vyčerpaní, mají snížené fyzické i psychické schopnosti, sníženou koncentraci, schopnost učení a paměť (Giglio et al. 2008).

U depresivních pacientů zaznamenává EEG zkrácenou REM latenci (čas mezi usnutím a nástupem první REM fáze), redukovaný delta spánek (Kupfer et al. 1978) a celkově delší REM spánek (Gillin et al. 1977). Pacienti procházející manickou fází mají zvýšenou REM aktivitu a REM denzitu, a stejně jako depresivní vykazují zkrácenou REM latenci (Hudson et al. 1988). Některé výzkumy ji ale nepotrvdily (Linkowski et al. 1986; Jernajczyk 1986). Výzkum s bipolárně a unipolárně depresivními pacienty zjistil, že se zlepšováním nálady u bipolárních pacientů, na rozdíl od unipolárních, dochází ke zvyšování REM latence (Beauchemin & Hays 1996). Pacienti v remisi vykazují vyšší denzitu očního pohybu během první REM fáze, zkrácení doby mezi první a druhou REM fází a vyšší procento REM spánku ve srovnání se zdravými kontrolami (Sitaram et al. 1982). Také se objevuje delší latence usnutí a delší celková doba spánku (Millar et al. 2004).

Ke sledování aktivity člověka se používá aktigrafie. Je to metoda zaznamenávající pohyb pomocí malého přístroje připevněného na těle (Acebo & LeBourgeois 2006). V něm je počítačový software, který je schopen stanovit spánkové parametry použitím algoritmů (Martin & Hakim 2011). Aktigrafická data umožňují sledovat periodicitu hlavních denních aktivit a také stabilitu nebo fragmentaci aktivity, odpočinku a spánku. Amplituda aktigrafického záznamu odpovídá robustnosti cirkadiánního rytmu (Pagani et al. 2016 podle Witting et al. 1990).

Za použití aktigrafie byla u euthymických pacientů zaznamenána kratší aktivní fáze, celková nižší aktivita a nižší amplituda rytmu v aktivitě, delší spánek a pozdnější probouzení než u jejich příbuzných, kteří onemocněním netrpí (Pagani et al. 2016). Spánkové abnormality byly nalezeny i u lidí s vysokým rizikem poruch bipolárního spektra. Rizikoví pacienti měli mnohem variabilnější čas uléhání a trvání spánku, variabilní spánkovou fragmentaci a kvalitu spánku. Opět vykazovali nižší amplitudu v rytmu aktivity, ale na rozdíl od výzkumu (Pagani et al. 2016) byl u nich pozorován celkově kratší spánek než u kontrol (Ankers & Jones 2009). Výzkum dětí rodičů s BD ukázal sníženou potřebu spánku také u těchto dětí (Shaw et al. 2005).

Studie na monozygotních dvojčatech ukazují dědičnost v mnoha spánkových parametrech, jako je celkové trvání spánku, jeho kvalita, preference v časovém rozložení aktivity a spánku a spánková architektura - trvání delta spánku a REM spánku (Linkowski 1999). Vysoce dědičný je elektroencefalografický profil během non-REM fáze (De Gennaro et al. 2008). Dědičnost spánkové architektury i spánkových abnormalit poukazuje na to, že spánkové poruchy možná nepředstavují jen doprovodné projevy bipolární nemoci, ale mohou souviset s jejím nástupem.

5. Role napěťově závislých vápníkových kanálů L-typu v SCN

Napěťově závislé vápníkové kanály se otevírají při depolarizaci membrány neuronů a proudí jimi vápenaté ionty po elektrochemickém gradientu. Vápník, který jimi vstoupí do buňky, může aktivovat procesy vedoucí například ke genové transkripci nebo přispívat k udržování spontánní elektrické aktivity neuronů. Napěťově závislé vápníkové kanály se rozdělují do několika typů podle jejich vodivosti a napětí, při jakém se otevírají. Kanály L-typu (Ca_v1) se otvírají při vysokém napětí, mají pomalou napěťově závislou inaktivaci a velkou vodivost (Heyes et al. 2015; Zamponi et al. 2015). Exprese kanálů L-typu je v SCN vyšší než exprese jiných typů napěťových vápníkových kanálů (Nahm et al. 2005).

5.1 Role kanálů L-typu ve spontánní elektrické aktivitě

SCN vykazují spontánní elektrickou aktivitu (tzv. „firing rate“) s periodou přibližně 24 hodin, která dosahuje maxima uprostřed dne a minima v noci (Green & Gillette 1982). Tato aktivita působí jako jeden z výstupních signálů, jimiž SCN synchronizuje další oblasti mozku, ale také zpětně působí na transkripční aktivitu v samotném SCN (Colwell 2011). Mechanismus, jakým se vzájemně ovlivňují molekulární smyčky se spontánní elektrickou aktivitou, je reciproční. Hodinové geny zpětně regulují expresi kanálů a tím i elektrickou aktivitu neuronů a uzavírají tuto zpětnovazebnou smyčku vzájemného působení.

Koncentrace Ca^{2+} v neuronech SCN se rytmicky mění, ve dne je vyšší než v noci, a tento rytmus přetrvává i ve stálé tmě (Colwell 2000). Blokátor kanálů L-typu nimodipin blokuje tyto cirkadiánní změny v intracelulárním vápníku, a zároveň snižuje frekvenci i amplitudu

elektrických oscilací neuronů SCN ve dne, což poukazuje na roli těchto kanálů v regulaci rytmu elektrické aktivity SCN (Cyriel M A Pennartz 2002). Kanály L-typu zřejmě tvoří jakýsi můstek mezi elektrickou aktivitou buněk SCN a genovou expresí hodinových genů (tzv. excitation-transcription coupling) (Wheeler et al. 2012).

5.2 Cirkadiánní regulace exprese kanálu $Ca_v1.2$

Exprese podjednotek vápníkového kanálu L-typu $Ca_v1.2$ vykazuje v SCN cirkadiánní rytmicitu. Nejvyšší hladiny dosahuje v pozdní subjektivní noci, nejnižší během dne. Myši s delecí genu pro kanál $Ca_v1.2$ reagují na osvětlení v průběhu pozdní subjektivní noci výrazně nižším fázovým předběhnutím v porovnání s kontrolními, divokými typy myší (Schmutz et al. 2014). Myši deficientní v genu pro REVERBα vykazují přesně opačné vlastnosti ve velikosti fázového posunu; po světelném pulsu v pozdní subjektivní noci reagují větším fázovým předběhnutím než divoký typ (Preitner et al. 2002). Ukázalo se, že orphánový receptor REVERBα, tvořící vedlejší smyčku molekulárních hodin, potlačuje expresi $Ca_v1.2$ navázáním na vazebná místa, tzv. ROREs, v promotoru $Ca_v1.2$, analogicky jako reguluje expresi genu *Bmal1*. Působí přes den, v noci se $Ca_v1.2$ může volně exprimovat (Schmutz et al. 2014). Tyto experimenty prokázaly, že exprese $Ca_v1.2$ je regulována hodinovým mechanismem a patří do velké skupiny tzv. hodinami regulovaných genů.

Tento nález podporuje teorii o funkci vápníkových kanálu L-typu jakožto spojení mezi elektrickou aktivitou SCN a molekulární smyčkou hodinových genů. Tyto kanály se kromě podílení na vytváření a udržování elektrických oscilací účastní extracelulárně aktivovaných signálních kaskád v SCN a uplatňují se v procesu indukce fázového posunu po světelném pulsu v pozdní subjektivní noci.

Fakt, že absence $Ca_v1.2$ neměla vliv na fázový posun během brzké subjektivní noci, lze vysvětlit působením jiného druhu vápníkových kanálů, například kanálů T-typu, spojovaných s fázovým zpožděním (Kim et al. 2005). Dalším vysvětlením může být role ryanodinového receptoru, který je zahrnut v mechanismu fázového zpoždění, a který může indukovat signální kaskády vedoucí k expresi genů výlevem Ca^{2+} z intracelulárních zásobáren. Naopak

mechanismus fázového předběhnutí nezahrnuje ryanodinový receptor a lze tedy předpokládat významnější uplatnění napěťových kanálů (Schmutz et al. 2014).

5.3 Vliv kanálů L-typu na indukci fázového posunu po světelném pulsu

Napěťově závislé vápníkové kanály mají v SCN podíl na intracelulárním zvýšení vápníku po světelném pulsu a výlevu glutamátu aktivujícím zejména NMDA receptory (Colwell 2001). Elektrická stimulaci RHT a měření následné intracelulární koncentrace Ca^{2+} v postsynaptickém neuronu v SCN ukázaly, že míra zvýšení iontů v buňce závisí na trvání a frekvenci stimulace RHT a na frekvenci akčních potenciálů v neuronech SCN (Irwin & Allen 2007). Nízká spontánní elektrická aktivita v SCN během noci zajišťuje citlivost buněk ke světelnému pulsu a umožňuje vznik indukované elektrické aktivity, která se pak promítá do vzniku fázového posunu. Pro světlem indukovaný fázový posun je důležitá nízká spontánní elektrická aktivita v SCN během noci. Influx vápníku po stimulaci RHT je způsoben jednak propustností NMDA receptorů pro vápník, ale také vápníkovými kanály L-typu. Jejich blokádou pomocí nimodipinu se významně snížila intracelulární koncentrace vápníku po depolarizaci indukované stimulací RHT (Irwin & Allen 2007). Blokáda kanálů L- typu také zabránila fázovému předběhnutí na konci subjektivní noci (Kim et al. 2005). Tyto experimenty prokázaly, že napěťově závislé vápníkové kanály L-typu mají důležitý podíl na synchronizaci vnitřních hodin se světlem.

Delece genů kódujících L-kanál $Ca_v1.2$ měla vliv na světlem indukovanou expresi hodinových genů *Per1* a *Per2*. Po světelném pulsu v časné subjektivní noci byla pozorována značně snížená indukce exprese *Per2*, ale žádné změny v expresi *Per1*. Světlo v pozdní subjektivní noci naopak vedlo k nízké indukci exprese *Per1* a žádným změnám u *Per2*. Zjištění potvrzují, že tento kanál může mít vliv na velikost fázového posunu po světelném pulsu působením na světlem indukovanou expresi genů *Per* (Schmutz et al. 2014).

5.4 Signalizace od L-kanálů ke genové expresi

Způsob, jakým vápník proniká do buňky, udává, jaké signální kaskády budou spuštěny. Výzkum na kortikálních neuronech myší ukázal souvislost mezi typem otevřeného vápníkového kanálu a fosforylací CREB s následnou genovou transkripcí. Blokáda všech vápníkových kanálů, kromě

kanálů L-typu, způsobila zvýšení extracelulární koncentrace Ca^{2+} s následným zvýšením fosforylace CREBu a jím indukované transkripce. Naopak v přítomnosti nimodipinu, blokátoru kanálů L-typu $Ca_v1.2$, stejná extracelulární koncentrace Ca^{2+} v kultuře nevedla k fosforylaci CREBu a následné transkripci. Vápník, který prošel jinými kanály, tedy neaktivoval transkripci pomocí CREB. Kanál L-typu $Ca_v1.2$ zřejmě nefunguje jen jako pór pro vstup iontů, ale sám se podílí na aktivaci specifické intracelulární signalizace (Dolmetsch et al. 2001).

Výzkum Hudmonda et al. ukázal, že kináza CaMKII je fyzicky spojena s kanály $Ca_v1.2$. Vstupující vápník se váže ke kalmodulinu (CaM), ten aktivuje kinázu CaMKII, a ta následně interaguje s COOH koncem α_1 podjednotky kanálu $Ca_v1.2$, kterou fosforyluje. Tato vazba přetrvává i poté, co se koncentrace vápníku vrátí do normálu. CaMKII tedy působí jako senzor aktivity kanálu a zároveň jeho aktivitu sama reguluje fosforylací α_1 podjednotky a usnadňuje otevření kanálu a vtok Ca^{2+}. Mutace vazebného místa na α_1 podjednotce zabrání usnadněnému influxu vápníku fosforylační aktivitou CaMKII (Hudmon et al. 2005). Bylo navrženo, že CaMKII funguje jako lokální snímač frekvence otevírání kanálu, který následně spouští signalizaci k fosforylaci CREB. Aktivace CaMKII a fosforylace CREB tedy není závislá na velikosti Ca^{2+} toku, ale spíše na frekvenci otevírání kanálů L-typu (Wheeler et al. 2008). Důležitost CaMKII kinázy ve světlem indukovaném fázovém posunu potvrdilo několik výzkumů (Fukushima et al. 1997). Její inhibicí bylo zabráněno ve světlem indukované fosforylaci CREBu (Golombek & Ralph 1995) a expresi *Per1* a *Per2* (Yokota et al. 2001).

6. Polymorfismus v genu pro podjednotku kanálu $Ca_v1.2$ u pacientů s BP

Nedávný výzkum rodin, jejichž členové trpí bipolární poruchou, objevil oblast na chromozomu, která je pravděpodobně zodpovědná za dědičnost abnormalit v rytmu spánku a aktivity vyskytujících se u tohoto onemocnění. Na základě analýzy aktigrafických dat euthymických pacientů a jejich příbuzných bylo popsáno 73 různých fenotypů narušené aktivity, z nichž 49 bylo určeno jako dědičných a 13 vykazovalo významnou podobu se znaky akutní bipolární poruchy. Následně byla provedena genomová analýza jednonukleotidových polymorfismů (SNPs; z angl. „single nucleotide polymorphism“) korelovaná ke každému

výraznému znaku a byl identifikován lokus na 12. chromozomu, který koncentroval nejvíce SNP odpovědných za změny v aktivitě u bipolárních pacientů (Pagani et al. 2016). Objevený lokus sice neobsahuje žádný ze základních hodinových genů, jsou zde ale geny, které by mohly ovlivňovat stabilitu cirkadiánního molekulárního mechanismu. Je to například gen *JARID1a* kódující demetylázu histonů a gen *CACNA1C*. Protein JARID1a tvoří komplex s proteiny CLOCK a BMAL1 a rekrutuje je na promotor *Per2,* kde napomáhá jeho transkripci. Absence JARID1a v kultuře savčích buněk tlumí expresi PER a zkracuje cirkadiánní periodu (DiTacchio et al. 2011). Gen *CACNA1C* kóduje α_1 podjednotku napěťově závislého vápníkového kanálu L-typu $Ca_v1.2$. Podjednotka α ve vápníkových napěťových kanálech formuje pór kanálu a obvykle také rozhoduje o kinetice kanálu, jeho napěťové závislosti a vodivosti (Heyes et al. 2015). Gen *CACNA1C* je rytmicky exprimován a jeho rytmus je souběžný s expresí genu *Per1* a v anti-fázi oproti CLOCK (McCarthy et al. 2016). Experimenty na myších poukázaly na možnou souvislost mezi expresí CACNA1C a úzkostným chováním (Lee et al. 2012).

Polymorfismus v genu pro CACNA1C u bipolárních pacientů potvrdilo i několik dalších celogenomových studií (Sklar et al. 2008; Uemura et al. 2015). Tento polymorfismus byl popsán i u pacientů s dalšími psychiatrickými poruchami a definován jako společný znak bipolární deprese, autismu, ADHD, unipolární deprese a schizofrenie (Consortium 2013). Nejčastěji nalezený polymorfismus v genu *CACNA1C* je označen rs1006737. Nachází se ve 3. intronu na 12. chromozomu (Ferreira et al. 2008). Na tomto místě se objevuje obvykle guanin, u riskantní (minoritní) alely asociované s bipolární poruchou se zde objevuje adenin. Riskantní varianta se ale objevuje i u zdravých lidí, s frekvencí přibližně 0,33%.

6.1 Změny v mozkové aktivitě asociované s polymorfismem rs1006737

U bipolárních pacientů bylo nalezeno narušení exekutivních funkcí, jako je například krátkodobá pracovní paměť. Lehký deficit byl pozorován i u potomků těchto pacientů, jedná se tedy o dědičnou záležitost (Arts et al. 2008). Narušenou pracovní paměť u pacientů s bipolární poruchou potvrzují i další studie (McGrath et al. 2001). V pracovní paměti se uplatňuje dorzolaterální prefrontální kortex, který u bipolárních pacientů vykazuje abnormální aktivitu během jejího zapojení (Dell'Osso et al. 2015). Bipolární pacienti vykazují také narušené emoční chování a emoční paměť. V těchto procesech se uplatňuje limbický systém zahrnující oblasti,

jako je amygdala a hipokampus. Obě tyto oblasti vykazovaly zvýšenou aktivitu u BD pacientů v odpovědi na negativní emocionální stimuly, ve srovnání s kontrolami (Almeida et al. 2010; Whalley et al. 2009).

Několik studií se zabývalo vlivem polymorfismu rs1006737 v genu *CACNA1C* na mozkové funkce při těchto procesech sledováním mozkové aktivity pomocí funkční magnetické rezonance. Minoritní alela v polymorfismu rs1006737 byla asociována se zhoršením pracovní paměti a se změnami v aktivaci prefrontálního kortexu při jejím vykonávání. Zdraví nosiči polymorfismu měli ve výzkumu Bigose et al. zvýšenou aktivitu prefrontálního kortexu během plnění úkolů na pracovní paměť (Bigos et al. 2010). Paulus et al. poukázal naopak na sníženou aktivitu v dorzolaterálním prefrontálním kortexu a sníženou kooperaci prefrontálního kortexu se spánkovým lalokem během zapojení pracovní paměti u homozygotů s riskantní alelou (Paulus et al. 2014).

Při úloze testující emoční paměť měli zdraví dobrovolníci nesoucí riskantní alelu zvýšenou aktivitu v hippokampu a lehce zvýšenou aktivitu amygdaly oproti kontrolám s obvyklou alelou (Bigos et al. 2010). Výzkumný tým Tesli et al. také zaznamenal zvýšenou aktivitu v amygdale během emočních procesů, ale pouze u bipolárních pacientů nesoucích polymorfismus, nikoliv u zdravých jedinců nesoucích polymorfismus (Tesli et al. 2013).

Bipolární pacienti i jejich potomci byli také asociováni s narušenou deklarativní pamětí, ve které se opět uplatňuje hipokampus (Quraishi et al., 2009). Zdraví nosiči polymorfismu rs1006737 vykazovali výrazné snížení hipokampální aktivace během používání deklarativní paměti a sníženou kooperaci mezi oblastmi levého a pravého hipokampu. Zároveň měli sníženou aktivaci subgenuální přední cingulární kůry, což je oblast limbického kortexu, také studovaná v souvislosti s afektivními poruchami (Drevets et al. 2008). Zajímavé je, že chování nosičů riskantních alel vykazovalo sklon k depresi, úzkosti, obsesivně kompulzivním myšlenkám a neuroticismu (Erk et al. 2010).

Experimenty ukazují korelaci výskytu polymorfismu rs1006737 s abnormální aktivací různých oblastí mozku při vykonávání funkcí, které bývají u bipolárních pacientů narušené. Původcem těchto abnormalit by tedy mohl být výskyt polymorfismu rs1006737 v genu pro kanálu L-typu. Podporuje to i zaznamenaná dědičnost narušených funkcí.

Polymorfismy v genu *CACNA1C* byly nalezeny také v celogenomové analýze u lidí trpících insomnií. Byly zde spojovány se spánkovou latencí. Při opakovém výzkumu se ale tato asociace nepotvrdila (Byrne et al. 2013). Další polymorfismus v genu *CACNA1C* (rs1692927) byl asociován s kvalitou spánku a zpožděným usínáním. Nosiči minoritní alely vykazovali depresivní symptomy, nejméně kvalitní spánek a zároveň kratší dobu usnutí ve srovnání s kontrolami (Parsons et al. 2013). Tyto polymorfismy byly nalezeny ve třetím intronu tohoto genu, stejně jako polymorfismus rs1006737 asociovaný s bipolární depresí, ačkoliv přesná lokalita se liší.

6.2 Vliv polymorfismu rs1006737 na expresi a funkci vápníkového kanálu $Ca_v1.2$

Vliv polymorfismu rs1006737 na míru exprese *CACNA1C* není zcela jednoznačný. Podle výzkumu Roussos et al. leží SNP rs1006737 v regulační oblasti (v tzv. cis-elementu), který váže transkripční faktory a interaguje s promotorem genu *CACNA1C*. Takto může mít vliv na jeho expresi, kterou podle této studie snižuje (Roussos et al. 2014). V souladu s tím poukázal Gershon et al. u nosičů tohoto polymorfismu na sníženou expresi α_1 podjednotky $Ca_v1.2$ v mozečku *post mortem*, ale ne v parietálním kortexu. Je tedy možné, že se vliv polymorfismu na expresi tohoto genu v různých oblastech mozku liší (Gershon et al. 2014).

Jiné studie popisují naopak zvýšenou expresi *CACNA1C* v souvislosti s polymorfismem rs1006737. U homozygotů v minoritní alele byly nalezeny nejvyšší hladiny mRNA *CACNA1C* v mozku *post mortem*, homozygoti v majoritní alele vykazovali nejnižší expresi (Bigos et al. 2010). Experimenty na indukovaných neuronech z přeměněných fibroblastů zaznamenaly vyšší transkripci *CACNA1C* a vyšší vtok vápníku procházejícího kanálem u naprosté většiny buněk s riskantní alelou. Autoři se domnívají, že riskantní oblast pro vznik polymorfismu rs1006737, která leží v cis-elementu regulujícím expresi *CACNA1C*, může být různě aktivní v různých typech buněk a také různých vývojových stádiích (Yoshimizu et al. 2015).

6.3 Souvislost kanálu $Ca_v1.2$ s účinky lithia

Nejpoužívanější léčivo při léčbě bipolárních afektivních poruch je lithium. Upravuje výkyvy nálad, aktivitu a poruchy spánku (McCarthy et al. 2016). Výsledky studia mechanismu jeho působení pomáhají odhalit příčiny vzniku bipolární afektivní poruchy. Lithium působí kromě

jiného také na cirkadiánní systém. Prodlužuje délku cirkadiánní periody v buňkách SCN i na periferii a zvyšuje amplitudu rytmů hodinových genů v jednotlivých buňkách (Welsh & Moore-Ede 1990; Li et al. 2012). Zvýšení amplitudy cirkadiánních rytmů může být hlavní mechanismus, jakým lithium přispívá k léčbě BD.

Ve studii byla sledována exprese hodinového genu *Per2* a jeho souvislost s mírou exprese *CACNA1C* před a po přidání lithia. Samotná snížená exprese genu *CACNA1C* způsobila zvýšení amplitudy i celkové exprese *Per2*. Po přidání lithia, snížená exprese *CACNA1C* potlačovala jeho efekt na zvýšení amplitudy *Per2*. Je tedy zřejmé, že *CACNA1C* kódující α podjednotku kanálu Cav1.2 má vliv na účinek lithia a jeho působení na amplitudu exprese hodinových genů.

Dále byl sledován vliv polymorfismu v *CACNA1C* (rs4765913), také asociovaný s bipolární poruchou (Sklar et al. 2011), na účinek lithia v buňkách, nezávisle na tom, zda se jednalo o buňky pacientů nebo kontrol. U buněk s polymorfismem se amplituda *Per2* po přidání lithia vůbec nezvýšila, oproti homozygotům v majoritní alele, kde se zvýšila o 35%. Tento efekt by mohl být důsledkem snížené funkce kanálu způsobené polymorfismem a ovlivňovat signalizaci mezi kanálem a hodinovou smyčkou v neuronech.

Zajímavé je, že rytmicita exprese *CACNA1C* u bipolárních pacientů byla oslabená ve srovnání se zdravými kontrolami. U kontrol byla souběžná s expresí genu PER1 a v protifázi oproti CLOCK (McCarthy et al. 2016). Slabá rytmicita by mohla být výsledkem narušené cirkadiánní regulace podjednotky kanálu molekulární smyčkou, která však do značné míry závisí na elektrické aktivitě, ke které kanály Cav1.2 přispívají. Tyto experimenty mohou poskytnout návod, jak zkoumat oslabenou cirkadiánní rytmicitu u bipolárních pacientů.

7. Závěr

Vápník a vápníkové kanály hrají roli v mnoha fyziologických procesech, proto důsledky, které mohou plynout z nesprávné funkce kanálu, je obtížné přesně specifikovat. Není dosud známo, zda polymorfismus rs1006737 spojovaný s BP způsobuje zvýšenou funkci kanálu (tedy zvýšený influx Ca^{2+}) nebo naopak sníženou funkci. Také není objasněno, zda polymorfismus může mít tkáňově specifickou funkci v různých oblastech mozku.

Bipolární deprese je typická nízkou amplitudou cirkadiánní rytmicity. $Ca_v1.2$ kanály se podílejí na generování rytmu spontánní elektrické aktivity v SCN a tento rytmus by mohl být v důsledku výskytu polymorfismu α_1 podjednotky výrazně zeslaben. Rytmus elektrické aktivity SCN se slabou amplitudou může nedostatečně synchronizovat ostatní oblasti mozku a narušit rytmus aktivity a spánku, cirkadiánní syntézu hormonů nebo regulaci nálady a chování. V oblastech, jako je prefrontální kortex, amygdala a hipokampus, které vykazují neobvyklou aktivitu u pacientů s BP, jsou patrné oscilace hodinových genů, synchronizované signály z SCN (Sylvester et al. 2002; Jilg et al. 2010; Lamont et al. 2005). Jejich špatná synchronizace může ve svém důsledku znamenat narušenou expresi hodinami kontrolovaných genů, které již mají tkáňově specifickou funkci a zajišťují například syntézu a výlev mediátorů. Lithium a valproát, patřící mezi nejčastější léčiva bipolárních rytmů, zvyšují amplitudu exprese hodinových genů v SCN i na periferii (Johansson et al. 2011; Li et al. 2012).

Dalším důsledkem polymorfismu vápníkového kanálu L-typu může být nedostatečná synchronizace cirkadiánního pacemakeru se světlem. Exprese kanálů $Ca_v1.2$ je cirkadiánně regulovaná a dosahuje maxima v pozdní noci. Pokud polymorfismus rs1006737 způsobuje sníženou expresi α_1 podjednotky v SCN, může snížit schopnost pacemakeru fázového předběhnutí po světelném pulsu časně ráno, které je u člověka nezbytné pro synchronizaci volně běžícího rytmu. Léčiva afektivních poruch, jako je antidepresivum fluoxetin nebo valproát, způsobují fázové předběhnutí ve spontánní elektrické aktivitě v SCN (Sprouse et al. 2006) a v expresi hodinového genu *Per2* (Johansson et al. 2011). Je tedy možné, že jejich účinek spočívá mimo jiné v kompenzaci nedostatečnosti fázového posunu cirkadiánních rytmů způsobeného polymorfismem.

8. Literatura

sekundární citace jsou označeny *

Acebo, C. & LeBourgeois, M.K., 2006. Actigraphy. *Respiratory Care Clinics of North America*, 12(1), pp.23–30, viii.

Agostino, P. V. et al., 2004. Diurnal, circadian and photic regulation of calcium/calmodulin-dependent kinase II and neuronal nitric oxide synthase in the hamster suprachiasmatic nuclei. *Neurochemistry International*, 44(8), pp.617–625.

Akiyama, M. et al., 1999. Inhibition of Light- or Glutamate-Induced mPer1Expression Represses the Phase Shifts into the Mouse Circadian Locomotor and Suprachiasmatic Firing Rhythms. *The Journal of Neuroscience*, 19(3), pp.1115–1121.

Almeida, J.R.C., Versace, A., Hassel, S., Kupfer, D.J., Phillips, M.L., 2010. Elevated amygdala activity to sad facial expressions: a state marker of bipolar but not unipolar depression. *Biol. Psychiatry* 67, 414–421.

Ankers, D. & Jones, S.H., 2009. Objective assessment of circadian activity and sleep patterns in individuals at behavioural risk of hypomania. *Journal of Clinical Psychology*, 65(10), pp.1071–1086.

Arts, B., Jabben, N., Krabbendam, L., van Os, J., 2008. Meta-analyses of cognitive functioning in euthymic bipolar patients and their first-degree relatives. *Psychol. Med.* 38, 771–785.

Aschoff, J., 1958. Tierische Periodik unter dem Einfluß von Zeitgebern. *Zeitschrift für Tierpsychologie*, 15(1), pp.1–30.

*Association, A.P., 2013. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5®)*, American Psychiatric Pub.

Balsalobre, A. et al., 2000. Resetting of circadian time in peripheral tissues by glucocorticoid signaling. *Science (New York, N.Y.)*, 289(5488), pp.2344–2347.

Barbini, B. et al., 1996. Sleep loss, a possible factor in augmenting manic episode. *Psychiatry Research*, 65(2), pp.121–125.

*Barnett, J.H. & Smoller, J.W., 2009. The Genetics of Bipolar Disorder. *Neuroscience*, 164(1), pp.331–343.

Le Bars, D. et al., 1991. PET and plasma pharmacokinetic studies after bolus intravenous administration of melatonin in humans. *International Journal of Radiation Applications and Instrumentation. Part B, Nuclear Medicine and Biology*, 18(3), pp.357–362.

Bauer, M. et al., 2015. Influence of light exposure during early life on the age of onset of bipolar disorder. *Journal of Psychiatric Research*, 64, pp.1–8.

Bauer, M. et al., 2006. Temporal relation between sleep and mood in patients with bipolar disorder. *Bipolar Disorders*, 8(2), pp.160–167.

Beauchemin, K.M. & Hays, P., 1996. Dreaming away depression: the role of REM sleep and dreaming in affective disorders. *Journal of Affective Disorders*, 41(2), pp.125–133.

Bellivier, F. et al., 2014. Age at onset in bipolar I affective disorder in the USA and Europe. *The World Journal of Biological Psychiatry: The Official Journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry*, 15(5), pp.369–376.

Bellivier, F. et al., 2003. Age at onset in bipolar I affective disorder: further evidence for three subgroups. *The American Journal of Psychiatry*, 160(5), pp.999–1001.

Berson, D.M., Dunn, F.A. & Takao, M., 2002. Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock. *Science*, 295(5557), pp.1070–1073.

Bigos, K.L. et al., 2010. Genetic variation in CACNA1C affects brain circuitries related to mental illness. *Archives of General Psychiatry*, 67(9), pp.939–945.

Bowden, C.L., 2001. Strategies to reduce misdiagnosis of bipolar depression. *Psychiatric Services (Washington, D.C.)*, 52(1), pp.51–55.

Brainard, G.C. et al., 2001. Action spectrum for melatonin regulation in humans: Evidence for a novel circadian photoreceptor. *Journal of Neuroscience*, 21(16), pp.6405–6412.

Brown, S.A. et al., 2002. Rhythms of mammalian body temperature can sustain peripheral circadian clocks. *Current biology: CB*, 12(18), pp.1574–1583.

Bullock, B. & Murray, G., 2014. Reduced Amplitude of the 24 Hour Activity Rhythm A Biomarker of Vulnerability to Bipolar Disorder? *Clinical Psychological Science*, 2(1), pp.86–96.

Byrne, E.M. et al., 2013. A Genome-Wide Association Study of Sleep Habits and Insomnia. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics : the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 0(5), pp.439–451.

Calabrese, J.R. et al., 2003. Impact of bipolar disorder on a U.S. community sample. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 64(4), pp.425–432.

Carskadon, M.A. et al., 1999. Intrinsic circadian period of adolescent humans measured in conditions of forced desynchrony. *Neuroscience Letters*, 260(2), pp.129–132.

*Claustrat, B., Brun, J. & Chazot, G., 2005. The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Medicine Reviews*, 9(1), pp.11–24.

Colwell, C.S., 2000. Circadian modulation of calcium levels in cells in the suprachiasmatic nucleus. *The European Journal of Neuroscience*, 12(2), pp.571–576

*Colwell, C.S., 2011. Linking neural activity and molecular oscillations in the SCN. *Nature Reviews. Neuroscience*, 12(10), pp.553–569.

Colwell, C.S., 2001. NMDA-evoked calcium transients and currents in the suprachiasmatic nucleus: Gating by the circadian system. *European Journal of Neuroscience*, 13(7), pp.1420–1428.

Consortium, C.-D.G. of the P.G., 2013. Identification of risk loci with shared effects on five major psychiatric disorders: a genome-wide analysis. *The Lancet*, 381(9875), pp.1371–1379.

Crosio, C. et al., 2000. Light induces chromatin modification in cells of the mammalian circadian clock. *Nature Neuroscience*, 3(12), pp.1241–1247.

Cyriel M A Pennartz, M.T.G. de J., 2002. Diurnal modulation of pacemaker potentials and calcium current in the mammalian circadian clock. *Nature*, 416(6878), pp.286–90.

Daan, S. & Pittendrigh, C.S., 1976. A Functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. *Journal of comparative physiology*, 106(3), pp.253–266.

Dell'Osso, B. et al., 2015. Altered prefrontal cortex activity during working memory task in Bipolar Disorder: A functional Magnetic Resonance Imaging study in euthymic bipolar I and II patients. *J. Affect. Disord*. 184, 116–122.

Deshauer, D. et al., 2003. The cortisol awakening response in bipolar illness: a pilot study. *Canadian Journal of Psychiatry. Revue Canadienne De Psychiatrie*, 48(7), pp.462–466.

*Dibner, C., Schibler, U. & Albrecht, U., 2010. The mammalian circadian timing system: Organization and coordination of central and peripheral clocks. *Annual Review of Physiology*, 72, pp.517–549.

Ding, J.M. et al., 1998. A neuronal ryanodine receptor mediates light-induced phase delays of the circadian clock. *Nature*, 394(6691), pp.381–384

Ding, J.M. et al., 1994. Resetting the biological clock: Mediation of nocturnal circadian shifts by glutamate and NO. *Science*, 266(5191), pp.1713–1717.

DiTacchio, L. et al., 2011. Histone Lysine Demethylase JARID1a Activates CLOCK-BMAL1 and Influences the Circadian Clock. *Science*, 333(6051), pp.1881–1885.

Dolmetsch, R.E. et al., 2001. Signaling to the Nucleus by an L-type Calcium Channel-Calmodulin Complex Through the MAP Kinase Pathway. *Science*, 294(5541), pp.333–339.

Drevets, W.C., Savitz, J. & Trimble, M., 2008. The subgenual anterior cingulate cortex in mood disorders. *CNS spectrums*, 13(8), pp.663–681.

Drucker-Colín, R. et al., 1984. Fetal suprachiasmatic nucleus transplants: diurnal rhythm recovery of lesioned rats. *Brain Research*, 311(2), pp.353–357

Edwards, S. et al., 2001. Association between time of awakening and diurnal cortisol secretory activity. *Psychoneuroendocrinology*, 26(6), pp.613–622.

Eide, E.J. et al., 2005. Control of mammalian circadian rhythm by CKIepsilon-regulated proteasome-mediated PER2 degradation. *Molecular and Cellular Biology*, 25(7), pp.2795–2807.

Erk, S. et al., 2010. Brain function in carriers of a genome-wide supported bipolar disorder variant. *Archives of General Psychiatry*, 67(8), pp.803–811.

Evans, J.A. et al., 2015. Shell neurons of the master circadian clock coordinate the phase of tissue clocks throughout the brain and body. *BMC biology*, 13, p.43.

Ferreira, M.A.R. et al., 2008. Collaborative genome-wide association analysis supports a role for ANK3 and CACNA1C in bipolar disorder. *Nature Genetics*, 40(9), pp.1056–1058.

Figueiro, M.G. et al., 2011. The impact of light from computer monitors on melatonin levels in college students. *Neuro Endocrinology Letters*, 32(2), pp.158–163.

Fukushima, T. et al., 1997. The involvement of calmodulin and Ca2+/calmodulin-dependent protein kinase II in the circadian rhythms controlled by the suprachiasmatic nucleus. *Neuroscience Letters*,

227(1), pp.45–48.

Gekakis, N. et al., 1998. Role of the CLOCK protein in the mammalian circadian mechanism. *Science (New York, N.Y.)*, 280(5369), pp.1564–1569.

De Gennaro, L. et al., 2008. The electroencephalographic fingerprint of sleep is genetically determined: a twin study. *Annals of Neurology*, 64(4), pp.455–460.

Gershon, E.S. et al., 2014. A rare mutation of CACNA1C in a patient with bipolar disorder, and decreased gene expression associated with a bipolar-associated common SNP of CACNA1C in brain. *Molecular Psychiatry*, 19(8), pp.890–894.

Giglio, L.M.F. et al., 2008. Sleep in bipolar patients. *Sleep and Breathing*, 13(2), pp.169–173.

Gillin, J.C. et al., 1977. An EEG sleep study of a bipolar (manic-depressive) patient with a nocturnal switch process. *Biological Psychiatry*, 12(6), pp.711–718.

Ginty, D.D. et al., 1993. Regulation of CREB phosphorylation in the suprachiasmatic nucleus by light and a circadian clock. *Science*, 260(5105), pp.238–241.

Golombek, D. & Ralph, M., 1995. Circadian Responses to Light - the Calmodulin Connection. *Neuroscience Letters*, 192(2), pp.101–104.

*Golombek, D.A. & Rosenstein, R.E., 2010. Physiology of circadian entrainment. *Physiological Reviews*, 90(3), pp.1063–1102.

Green, D.J. & Gillette, R., 1982. Circadian rhythm of firing rate recorded from single cells in the rat suprachiasmatic brain slice. *Brain Research*, 245(1), pp.198–200.

Grierson, A.B. et al., 2016. Circadian rhythmicity in emerging mood disorders: state or trait marker? *International Journal of Bipolar Disorders*, 4(1), p.3.

Hamada, T. et al., 1999. The role of inositol trisphosphate-induced Ca2+ release from IP3-receptor in the rat suprachiasmatic nucleus on circadian entrainment mechanism. *Neuroscience Letters*, 263(2-3), pp.125–128.

Hannibal, J. et al., 2000. PACAP and glutamate are co-stored in the retinohypothalamic tract. *Journal of Comparative Neurology*, 418(2), pp.147–155.

*Harvey, A.G., 2008. Sleep and circadian rhythms in bipolar disorder: seeking synchrony, harmony, and regulation. *The American Journal of Psychiatry*, 165(7), pp.820–829.

Harvey, A.G. et al., 2005. Sleep-related functioning in euthymic patients with bipolar disorder, patients with insomnia, and subjects without sleep problems. *The American Journal of Psychiatry*, 162(1), pp.50–57.

Hattar, S. et al., 2002. Melanopsin-containing retinal ganglion cells: Architecture, projections, and intrinsic photosensitivity. *Science*, 295(5557), pp.1065–1070.

Hendrickson, A.E., Wagoner, N. & Cowan, W.M., 1972. An autoradiographic and electron microscopic study of retino-hypothalamic connections. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie*, 135(1), pp.1–26.

*Heyes, S. et al., 2015. Genetic disruption of voltage-gated calcium channels in psychiatric and neurological disorders. *Progress in Neurobiology*, 134, pp.36–54.

Holtzman, J.N. et al., 2015. Childhood-compared to adolescent-onset bipolar disorder has more statistically significant clinical correlates. *Journal of Affective Disorders*, 179, pp.114–120.

Hudmon, A. et al., 2005. CaMKII tethers to L-type Ca2+ channels, establishing a local and dedicated integrator of Ca2+ signals for facilitation. *The Journal of Cell Biology*, 171(3), pp.537–547.

Hudson, J.I. et al., 1988. Electroencephalographic sleep in mania. *Archives of General Psychiatry*, 45(3), pp.267–273.

Hunt, A.E. et al., 2001. Activation of MT2 melatonin receptors in rat suprachiasmatic nucleus phase advances the circadian clock. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, 280(1 49-1), pp.C110–C118.

Chen, Y.-W. & Dilsaver, S.C., 1996. Lifetime rates of suicide attempts among subjects with bipolar and unipolar disorders relative to subjects with other axis I disorders. *Biological Psychiatry*, 39(10), pp.896–899.

Irwin, R.P. & Allen, C.N., 2007. Calcium Response to Retinohypothalamic Tract Synaptic Transmission in Suprachiasmatic Nucleus Neurons. *The Journal of Neuroscience*, 27(43), pp.11748–11757.

Jernajczyk, W., 1986. Latency of eye movement and other REM sleep parameters in bipolar depression. *Biological Psychiatry*, 21(5-6), pp.465–472.

Jilg, A. et al., 2010. Temporal dynamics of mouse hippocampal clock gene expression support memory processing. *Hippocampus*, 20(3), pp.377–388.

Jin, X. et al., 2003. Targeted disruption of the mouse Mel(1b) melatonin receptor. *Molecular and Cellular Biology*, 23(3), pp.1054–1060.

Johansson, A.-S. et al., 2011. Valproic acid phase shifts the rhythmic expression of Period2::Luciferase. *Journal of Biological Rhythms*, 26(6), pp.541–551.

Kim, D.Y. et al., 2005. Voltage-gated calcium channels play crucial roles in the glutamate-induced phase shifts of the rat suprachiasmatic circadian clock. *The European Journal of Neuroscience*, 21(5), pp.1215–1222.

Klein, D.C., 1985. Photoneural regulation of the mammalian pineal gland. *Ciba Foundation Symposium*, 117, pp.38–56.

Klein, D.C. & Moore, R.Y., 1979. Pineal N-acetyltransferase and hydroxyindole-O-methyl-transferase: control by the retinohypothalamic tract and the suprachiasmatic nucleus. *Brain Research*, 174(2), pp.245–262.

Klein, D.C. & Weller, J.L., 1972. Rapid light-induced decrease in pineal serotonin N-acetyltransferase activity. *Science (New York, N.Y.)*, 177(4048), pp.532–533.

Kupfer, D.J., Foster, F.G., Coble, P., McPartland, R.J., Ulrich, R.F., 1978. The application of EEG sleep for the differential diagnosis of affective disorders. Am. J. Psychiatry 135, 69–74.

Lagerberg, T.V. et al., 2014. Indications of a dose-response relationship between cannabis use and age at onset in bipolar disorder. *Psychiatry Research*, 215(1), pp.101–104.

Lamont, E.W. et al., 2005. The central and basolateral nuclei of the amygdala exhibit opposite diurnal rhythms of expression of the clock protein Period2. *Proceedings of the National Academy of*

Sciences of the United States of America, 102(11), pp.4180–4184.

Lee, A.S. et al., 2012. Forebrain elimination of cacna1c mediates anxiety-like behavior in mice. *Molecular Psychiatry*, 17(11), pp.1054–1055.

Leibenluft, E. et al., 1996. Relationship between sleep and mood in patients with rapid-cycling bipolar disorder. *Psychiatry Research*, 63(2-3), pp.161–168.

Lewy, A.J. et al., 1980. Light suppresses melatonin secretion in humans. *Science (New York, N.Y.)*, 210(4475), pp.1267–1269.

Lewy, A.J. et al., 1985. Supersensitivity to light: Possible trait marker for manic-depressive illness. *American Journal of Psychiatry*, 142(6), pp.725–727.

Li, J. et al., 2012. Lithium Impacts on the Amplitude and Period of the Molecular Circadian Clockwork. *PLOS ONE*, 7(3), p.e33292.

Lichtenstein, P. et al., 2009. Common genetic determinants of schizophrenia and bipolar disorder in Swedish families: a population-based study. *Lancet (London, England)*, 373(9659), pp.234–239.

Linkowski, P., 1999. EEG sleep patterns in twins. *Journal of Sleep Research*, 8 Suppl 1, pp.11–13.

Linkowski, P. et al., 1986. Sleep during mania in manic-depressive males. *European Archives of Psychiatry and Neurological Sciences*, 235(6), pp.339–341.

Linkowski, P. et al., 1994. The 24-hour profiles of cortisol, prolactin, and growth hormone secretion in mania. *Archives of General Psychiatry*, 51(8), pp.616–624

Liu, C. et al., 1997. Molecular dissection of two distinct actions of melatonin on the suprachiasmatic circadian clock. *Neuron*, 19(1), pp.91–102.

Lucas, R.J., Douglas, R.H. & Foster, R.G., 2001. Characterization of an ocular photopigment capable of driving pupillary constriction in mice. *Nature Neuroscience*, 4(6), pp.621–626.

Martin, J.L. & Hakim, A.D., 2011. Wrist actigraphy. *Chest*, 139(6), pp.1514–1527.

Mathur, A., Golombek, D.A. & Ralph, M.R., 1996. cGMP-dependent protein kinase inhibitors block light-induced phase advances of circadian rhythms in vivo. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 270(5), pp.R1031–R1036.

Mavroudis, P.D. et al., 2012. Entrainment of peripheral clock genes by cortisol. *Physiological Genomics*, 44(11), pp.607–621.

Maywood, E.S. et al., 2006. Synchronization and maintenance of timekeeping in suprachiasmatic circadian clock cells by neuropeptidergic signaling. *Current Biology*, 16(6), pp.599–605.

*McCarley, R.W., 2007. Neurobiology of REM and NREM sleep. Sleep Med., Advances in Sleep Medicine 8, 302–330.

McCarthy, M.J. et al., 2016. Calcium channel genes associated with bipolar disorder modulate lithium's amplification of circadian rhythms. *Neuropharmacology*, 101, pp.439–448.

McGrath, J., Chapple, B., Wright, M., 2001. Working memory in schizophrenia and mania: correlation with symptoms during the acute and subacute phases. *Acta Psychiatr. Scand.* 103, 181–188.

McGuffin, P. et al., 2003. The heritability of bipolar affective disorder and the genetic relationship to unipolar depression. *Archives of General Psychiatry*, 60(5), pp.497–502

Mendoza, J., 2007. Circadian clocks: Setting time by food. *Journal of Neuroendocrinology*, 19(2), pp.127–137.

Merikangas, K.R. et al., 2007. Lifetime and 12-month prevalence of bipolar spectrum disorder in the National Comorbidity Survey replication. *Archives of General Psychiatry*, 64(5), pp.543–552.

Merikangas, K.R. et al., 2011. Prevalence and correlates of bipolar spectrum disorder in the world mental health survey initiative. *Archives of General Psychiatry*, 68(3), pp.241–251.

Millar, A., Espie, C.A. & Scott, J., 2004. The sleep of remitted bipolar outpatients: a controlled naturalistic study using actigraphy. *Journal of Affective Disorders*, 80(2-3), pp.145–153.

Le Minh, N. et al., 2001. Glucocorticoid hormones inhibit food-induced phase-shifting of peripheral circadian oscillators. *The EMBO Journal*, 20(24), pp.7128–7136.

Moore, R.Y. & Eichler, V.B., 1972. Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Research*, 42(1), pp.201–206.

Moore, R.Y. & Lenn, N.J., 1972. A retinohypothalamic projection in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 146(1), pp.1–14.

*Moore, R.Y., Speh, J.C. & Leak, R.K., 2014. Suprachiasmatic nucleus organization. *Cell and Tissue Research*, 309(1), pp.89–98.

Mrosovsky, N., 1988. Phase response curves for social entrainment. *Journal of Comparative Physiology A*, 162(1), pp.35–46.

Nahm, S.-S. et al., 2005. Circadian Regulation and Function of Voltage-Dependent Calcium Channels in the Suprachiasmatic Nucleus. *The Journal of Neuroscience*, 25(40), pp.9304–9308.

Nováková, M. et al., 2015. The circadian system of patients with bipolar disorder differs in episodes of mania and depression. *Bipolar Disorders*, 17(3), pp.303–314.

Nurnberger, J.I. et al., 2000. Melatonin suppression by light in euthymic bipolar and unipolar patients. *Archives of General Psychiatry*, 57(6), pp.572–579.

Nurnberger, J.I. et al., 1988. Supersensitivity to melatonin suppression by light in young people at high risk for affective disorder. A preliminary report. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 1(3), pp.217–223.

Obrietan, K. et al., 1999. Circadian regulation of cAMP response element-mediated gene expression in the suprachiasmatic nuclei. *The Journal of Biological Chemistry*, 274(25), pp.17748–17756. Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10364217.

Oquendo, M.A. et al., 2010. Increased risk for suicidal behavior in comorbid bipolar disorder and alcohol use disorders: results from the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions (NESARC). *The Journal of Clinical Psychiatry*, 71(7), pp.902–909.

Ortiz, A. et al., 2011. An admixture analysis of the age at index episodes in bipolar disorder. *Psychiatry Research*, 188(1), pp.34–39.

Pagani, L. et al., 2016. Genetic contributions to circadian activity rhythm and sleep pattern phenotypes in

pedigrees segregating for severe bipolar disorder. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(6), pp.E754–761.

Parsons, M.J. et al., 2013. Replication of Genome-Wide association studies (GWAS) loci for sleep in the British G1219 cohort. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 162(5), pp.431–438.

Paulus, F.M. et al., 2014. Association of rs1006737 in CACNA1C with alterations in prefrontal activation and fronto-hippocampal connectivity. *Human Brain Mapping*, 35(4), pp.1190–1200.

Peet, M., 1994. Induction of mania with selective serotonin re-uptake inhibitors and tricyclic antidepressants. *The British Journal of Psychiatry: The Journal of Mental Science*, 164(4), pp.549–550.

Perlis, M.L. et al., 1997. Self-reported sleep disturbance as a prodromal symptom in recurrent depression. *Journal of Affective Disorders*, 42(2–3), pp.209–212.

*Philips, M.L & Kupfer, D.J., 2013. Bipolar disorder diagnosis: challenges and future directions. *The Lancet* 381, č.9878

Pittendrigh, C.S., 1960. Circadian rhythms and the circadian organization of living systems. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 25, pp.159–184.

Plano, S.A., Agostino, P. V. & Golombek, D.A., 2007. Extracellular nitric oxide signaling in the hamster biological clock. *FEBS Letters*, 581(28), pp.5500–5504.

Post, R.M. et al., 2015. Verbal abuse, like physical and sexual abuse, in childhood is associated with an earlier onset and more difficult course of bipolar disorder. *Bipolar Disorders*, 17(3), pp.323–330.

Preitner, N. et al., 2002. The orphan nuclear receptor REV-ERBalpha controls circadian transcription within the positive limb of the mammalian circadian oscillator. *Cell*, 110(2), pp.251–260.

Quraishi, S., Walshe, M., McDonald, C., Schulze, K., Kravariti, E., Bramon, E., Morris, R.G., Murray, R.M., Toulopoulou, T., 2009. Memory functioning in familial bipolar I disorder patients and their relatives. *Bipolar Disord.* 11, 209–214.

Reiter, R.J., 1991. Melatonin: The chemical expression of darkness. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 79(1–3), pp.C153–C158.

Reiter, R.J., 1991. Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocrine Reviews*, 12(2), pp.151–180.

Reppert, S.M., Weaver, D.R. & Godson, C., 1996. Melatonin receptors step into the light: Cloning and classification of subtypes. *Trends in Pharmacological Sciences*, 17(3), pp.100–102

Robillard, R. et al., 2013. Sleep-wake cycle and melatonin rhythms in adolescents and young adults with mood disorders: Comparison of unipolar and bipolar phenotypes. *European Psychiatry*, 28(7), pp.412–416.

Roussos, P. et al., 2014. A role for non-coding variation in schizophrenia. *Cell reports*, 9(4), pp.1417–1429.

Sakamoto, K. et al., 1998. Multitissue Circadian Expression of Rat periodHomolog (rPer2) mRNA Is Governed by the Mammalian Circadian Clock, the Suprachiasmatic Nucleus in the Brain. *Journal of*

Biological Chemistry, 273(42), pp.27039–27042.

Sato, T.K. et al., 2004. A functional genomics strategy reveals Rora as a component of the mammalian circadian clock. *Neuron*, 43(4), pp.527–537.

Shaw, J.A. et al., 2005. A 10-Year Prospective Study of Prodromal Patterns for Bipolar Disorder Among Amish Youth. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 44(11), pp.1104–1111.

Shearman, L.P. et al., 2000. Interacting molecular loops in the mammalian circadian clock. *Science (New York, N.Y.)*, 288(5468), pp.1013–1019.

Shirakawa, T. et al., 2000. Synchronization of circadian firing rhythms in cultured rat suprachiasmatic neurons. *The European Journal of Neuroscience*, 12(8), pp.2833–2838.

Schmutz, I. et al., 2014. A Specific Role for the REV-ERBα–Controlled L-Type Voltage-Gated Calcium Channel CaV1.2 in Resetting the Circadian Clock in the Late Night. *Journal of Biological Rhythms*, 29(4), pp.288–298.

Simon, N.M. et al., 2004. Anxiety Disorder Comorbidity in Bipolar Disorder Patients: Data From the First 500 Participants in the Systematic Treatment Enhancement Program for Bipolar Disorder (STEP-BD). *American Journal of Psychiatry*, 161(12), pp.2222–2229.

Sitaram, N. et al., 1982. Cholinergic regulation of mood and REM sleep: potential model and marker of vulnerability to affective disorder. *The American Journal of Psychiatry*, 139(5), pp.571–576.

Sklar, P. et al., 2011. Large-scale genome-wide association analysis of bipolar disorder identifies a new susceptibility locus near ODZ4. *Nature Genetics*, 43(10), pp.977–983. Available at:

Sklar, P. et al., 2008. Whole-genome association study of bipolar disorder. *Molecular Psychiatry*, 13(6), pp.558–569.

Souetre, E. et al., 1988. Twenty-four-hour profiles of body temperature and plasma TSH in bipolar patients during depression and during remission and in normal control subjects. *The American Journal of Psychiatry*, 145(9), pp.1133–1137.

Sprouse, J., Braselton, J. & Reynolds, L., 2006. Fluoxetine modulates the circadian biological clock via phase advances of suprachiasmatic nucleus neuronal firing. *Biological Psychiatry*, 60(8), pp.896–899

Stephan, F.K. & Zucker, I., 1972. Circadian Rhythms in Drinking Behavior and Locomotor Activity of Rats Are Eliminated by Hypothalamic Lesions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 69(6), pp.1583–1586.

Strassman, R.J. et al., 1991. Elevated rectal temperature produced by all-night bright light is reversed by melatonin infusion in men. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 71(6), pp.2178–2182.

Sylvester, C.M., Krout, K.E. & Loewy, A.D., 2002. Suprachiasmatic nucleus projection to the medial prefrontal cortex: a viral transneuronal tracing study. *Neuroscience*, 114(4), pp.1071–1080.

Tesli, M. et al., 2013. CACNA1C risk variant and amygdala activity in bipolar disorder, schizophrenia and healthy controls. *PloS One*, 8(2), p.e56970.

Tillman, R. & Geller, B., 2003. Definitions of rapid, ultrarapid, and ultradian cycling and of episode

duration in pediatric and adult bipolar disorders: a proposal to distinguish episodes from cycles. *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology*, 13(3), pp.267–271.

Toh, K.L. et al., 2001. An hPer2 phosphorylation site mutation in familial advanced sleep phase syndrome. *Science (New York, N.Y.)*, 291(5506), pp.1040–1043.

Trachsel, L. et al., 1992. Sleep homeostasis in suprachiasmatic nuclei-lesioned rats: effects of sleep deprivation and triazolam administration. *Brain Research*, 589(2), pp.253–261.

Travnickova-Bendova, Z. et al., 2002. Bimodal regulation of mPeriod promoters by CREB-dependent signaling and CLOCK/BMAL1 activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(11), pp.7728–7733.

Tunstall, R.R. et al., 2011. MT2 Receptors Mediate the Inhibitory Effects of Melatonin on Nitric Oxide-Induced Relaxation of Porcine Isolated Coronary Arteries. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 336(1), pp.127–133.

Uemura, T., Green, M. & Warsh, J.J., 2015. CACNA1C SNP rs1006737 associates with bipolar I disorder independent of the Bcl-2 SNP rs956572 variant and its associated effect on intracellular calcium homeostasis. *The World Journal of Biological Psychiatry: The Official Journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry*, pp.1–10.

*Vasalou, C. & Henson, M.A., 2011. A multicellular model for differential regulation of circadian signals in the core and shell regions of the suprachiasmatic nucleus. *Journal of Theoretical Biology*, 288, pp.44–56.

Welsh, D.K. et al., 1995. Individual neurons dissociated from rat suprachiasmatic nucleus express independently phased circadian firing rhythms. *Neuron*, 14(4), pp.697–706.

Welsh, D.K. & Moore-Ede, M.C., 1990. Lithium lengthens circadian period in a diurnal primate, Saimiri sciureus. *Biological Psychiatry*, 28(2), pp.117–126.

Whalley, L.J. et al., 1985. Selective increase in plasma luteinising hormone concentrations in drug free young men with mania. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 290(6462), pp.99–102.

Whalley, H.C., McKirdy, J., Romaniuk, L., Sussmann, J., Johnstone, E.C., Wan, H.I., McIntosh, A.M., Lawrie, S.M., Hall, J., 2009. Functional imaging of emotional memory in bipolar disorder and schizophrenia. Bipolar Disord. 11, 840–856.

Wheeler, D.G. et al., 2008. CaMKII locally encodes L-type channel activity to signal to nuclear CREB in excitation–transcription coupling. *The Journal of Cell Biology*, 183(5), pp.849–863.

Wheeler, D.G. et al., 2012. CaV1 and CaV2 Channels Engage Distinct Modes of Ca2+ Signaling to Control CREB-dependent Gene Expression. *Cell*, 149(5), pp.1112–1124.

Witting, W. et al., 1990. Alterations in the circadian rest-activity rhythm in aging and Alzheimer's disease. *Biological Psychiatry*, 27(6), pp.563–572.

Wood, B. et al., 2013. Light level and duration of exposure determine the impact of self-luminous tablets on melatonin suppression. *Applied Ergonomics*, 44(2), pp.237–240.

Wu, G.-Y., Deisseroth, K. & Tsien, R.W., 2001. Activity-dependent CREB phosphorylation: Convergence of a fast, sensitive calmodulin kinase pathway and a slow, less sensitive mitogen-activated protein

kinase pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(5), pp.2808–2813.

Yang, S. et al., 2009. Assessment of circadian function in fibroblasts of patients with bipolar disorder. *Molecular Psychiatry*, 14(2), pp.143–155.

Yin, L. et al., 2006. Nuclear Receptor Rev-erbα Is a Critical Lithium-Sensitive Component of the Circadian Clock. *Science*, 311(5763), pp.1002–1005.

Yokota, S. et al., 2001. Involvement of calcium-calmodulin protein kinase but not mitogen-activated protein kinase in light-induced phase delays and Per gene expression in the suprachiasmatic nucleus of the hamster. *Journal of Neurochemistry*, 77(2), pp.618–627.

Yoshimizu, T. et al., 2015. Functional implications of a psychiatric risk variant within CACNA1C in induced human neurons. *Molecular Psychiatry*, 20(2), pp.162–169.

*Zamponi, G.W. et al., 2015. The Physiology, Pathology, and Pharmacology of Voltage-Gated Calcium Channels and Their Future Therapeutic Potential. *Pharmacological Reviews*, 67(4), pp.821–870.