

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze,
Katedra fyziologie živočichů a vývojové biologie, Oddělení fyziologie živočichů

Fyziologické funkce cirkadiánního systému a jejich poruchy

Physiological Functions and Malfunctions of the Circadian System

bakalářská práce

řešitel: Marta Nováková

vedoucí: PharmDr. Alena Sumová, CSc.

Fyziologický ústav Akademie věd ČR

2007

Poděkování:

Děkuji PharmDr. Aleně Sumové, CSc. za její cenné rady a připomínky a Prof. RNDr. Heleně Illnerové, DrSc. za totéž. Dále děkuji rodině za podporu a pomoc při grafickém zpracování textu.

ABSTRAKT

Cirkadiánní rytmy jsou všechny biologické děje, které se i v neperiodickém prostředí pravidelně opakují s periodou přibližně 24 hodin. Patří mezi ně např. rytmus v pohybové aktivitě u zvířat, spánku a bdění u člověka, sekreci různých hormonů a tělesné teplotě. Tyto rytmy jsou řízeny centrálně z hypotalamických suprachiasmatických jader (SCN). Na molekulární úrovni je pravidelnost těchto cyklů podmíněna rytmickou expresí tzv. hodinových genů v jednotlivých neuronech SCN, která je regulována pomocí transkripčně-translačních zpětnovazebných smyček. Hodinové geny jsou rytmicky přepisovány i v periferních tkáních, tyto periferní oscilace jsou však centrálně synchronizovány SCN. Jak centrální, tak periferní oscilátory jsou synchronizovány k 24 hodinovému cyklu pravidelným střídáním světlé a tmavé části dne. Cirkadiánní hodiny v SCN řídí také rytmickou expresi tzv. hodinami řízených genů a ovlivňují tak regulaci nejrůznějších fyziologických dějů. Vliv cirkadiánního systému na fyziologii organismu je veliký. Poruchy časového řádu organismu mohou přispívat ke vzniku nejrůznějších chorob, např. k nádorovému bujení, obezitě, poruchám spánku, epilepsii, Alzheimerově chorobě, cerebrovaskulárním a kardiovaskulárním chorobám, nervosvalovým poruchám, roztoušené skleróze či bolestem hlavy. Cílem této bakalářské práce je stručně shrnout vliv cirkadiánního systému na fyziologické funkce organismu.

ABSTRACT

Biological processes which under constant conditions repeat regularly in about 24 hour intervals are called circadian rhythms. For example, these rhythms are in sleep/wake, locomotor activity, hormonal secretion and body temperature. Circadian rhythms are controlled centrally from the hypothalamic suprachiasmatic nuclei (SCN). At the molecular level, the periodicity of these rhythms is due to the rhythmic expression of clock genes in individual neurons of the SCN. The expression of the clock genes is controlled by transcriptional-translational feedback loops. The clock genes are also rhythmically transcribed in peripheral tissues. However, peripheral oscillations are synchronized centrally by the SCN. Central and also peripheral oscillators are entrained precisely to the 24 hour day by regular changes of the light and dark period, namely by the light period of the day. The circadian clock in the SCN controls also the rhythmic expression of clock-controlled genes and via this way it affects many physiological processes. The effect of the circadian system on physiology of an organism is enormous. Malfunctions in the circadian system may contribute to development of many diseases, e.g. a malignant growth, obesity, sleep disorders, epilepsy, Alzheimer disease, cerebrovascular and cardiovascular diseases, neuromuscular disorders, multiple sclerosis or headaches. The aim of this bachelor's thesis is to summarize shortly the effect of the circadian system on physiological functions of the organism.

Seznam použitých zkratk:

ANS.....	autonomní nervový systém
ASPS	advanced sleep phase syndrome, syndrom předběhnuté fáze spánku
AVP.....	arginin vasopresin
CCGs.....	clock controlled genes, geny kontrolované hodinami
CK1	kasein kináza 1
DBP	albumin D-element binding protein, albumin D-element vázající protein
DD	dark-dark, stálá tma
DMBA.....	dimethylbenzanthracen
DSPS	delayed sleep phase syndrome, syndrom zpožděné fáze spánku
FASPS	family advanced sleep phase syndrome, rodinný syndrom zpožděné fáze spánku
GABA.....	gamma-aminobutyric acid, kyselina gama-aminomáselná
GRP	gastrin releasing peptid, peptid uvolňující gastrin
LD.....	light-dark, režim světlo-tma
MAPK	mitogen-activated protein kinase, mitogenem aktivovaná protein kináza
NES	night eating syndrome, syndrom nočního příjmu potravy
NPY.....	neuropeptid Y
REM	rapid eye movement, rychlý pohyb očí
RF	resticted feeding, omezený příjem potravy
RHT.....	retino-hypotalamický trakt
SCN.....	suprachiasmatic nuclei, suprachiasmatická jádra
VIP	vasointestinální polypeptid

Klíčová slova:

cirkadiánní hodiny, hodinové geny, periferie, fyziologie, obezita, nádorová onemocnění, spánek

OBSAH

1. ÚVOD	7
2. MOLEKULÁRNÍ MECHANISMUS TVORBY CIRKADIÁNNÍCH RYTMŮ	8
3. CIRKADIÁNNÍ SYSTÉM A JEHO SYNCHRONIZACE	10
3.1 CENTRÁLNÍ HODINY V SUPRACHIASMATICKÝCH JÁDRECH (SCN)	10
3.2 PERIFERNÍ HODINY	11
3.3 SYNCHRONIZACE CIRKADIÁNNÍHO SYSTÉMU.....	11
4. HIERARCHIE ŘÍZENÍ CIRKADIÁNNÍHO SYSTÉMU, FYZIOLOGICKÝ VÝZNAM	13
5. PORUCHY CIRKADIÁNNÍ REGULACE FYZIOLOGICKÝCH DĚJŮ	13
5.1 OBEZITA	14
5.1.1 <i>Regulační mechanismy příjmu potravy</i>	14
5.1.2 <i>Cirkadiánní poruchy regulace příjmu potravy</i>	16
5.2 NÁDOROVÁ ONEMOCNĚNÍ.....	17
5.2.1 <i>Regulace buněčného dělení</i>	17
5.2.2 <i>Poruchy cirkadiánního systému s vlivem na buněčné dělení</i>	18
5.3 SPÁNEK.....	21
5.3.1 <i>Vliv cirkadiánního systému na spánek</i>	22
5.3.2 <i>Spánkové poruchy</i>	22
6. ZÁVĚR	24

1. ÚVOD

V každém organismu můžeme pozorovat nejrůznější děje, které se pravidelně opakují s určitou periodou i v neperiodickém prostředí.

Dle délky periody je rozdělujeme na:

- ultradiánní s periodou výrazně kratší než 24 hodin, např. srdeční a dechové rytmy
- cirkadiánní, které mají periodu pohybující se přibližně okolo 24 hodin, např. rytmus spánku a bdění u člověka, pohybové aktivity u zvířat, příjmu potravy, tělesné teploty, produkce hormonů či exprese stovek genů
- infradiánní s periodou podstatně delší než 1 den, např. cyklus estrální u zvířat či menstruační u žen, nebo roční rytmy v reprodukční aktivitě či v zimním spánku

Ve své práci se budu dále zabývat pouze cirkadiánními rytmy. Tyto rytmy se vyskytují ve všech organismech, dokonce i jednobuněčných. Dlouho byly považovány pouze za pasivní odraz rytmických změn vnějšího prostředí, především pravidelného střídání světlé a tmavé části dne. Zjištění, že rytmy přetrvávají i v neperiodickém prostředí, především ve stálé tmě, prokázalo, že jsou vnitřní vlastností organismu a jsou tedy endogenní.

2. MOLEKULÁRNÍ MECHANISMUS TVORBY CIRKADIÁNNÍCH RYTMŮ

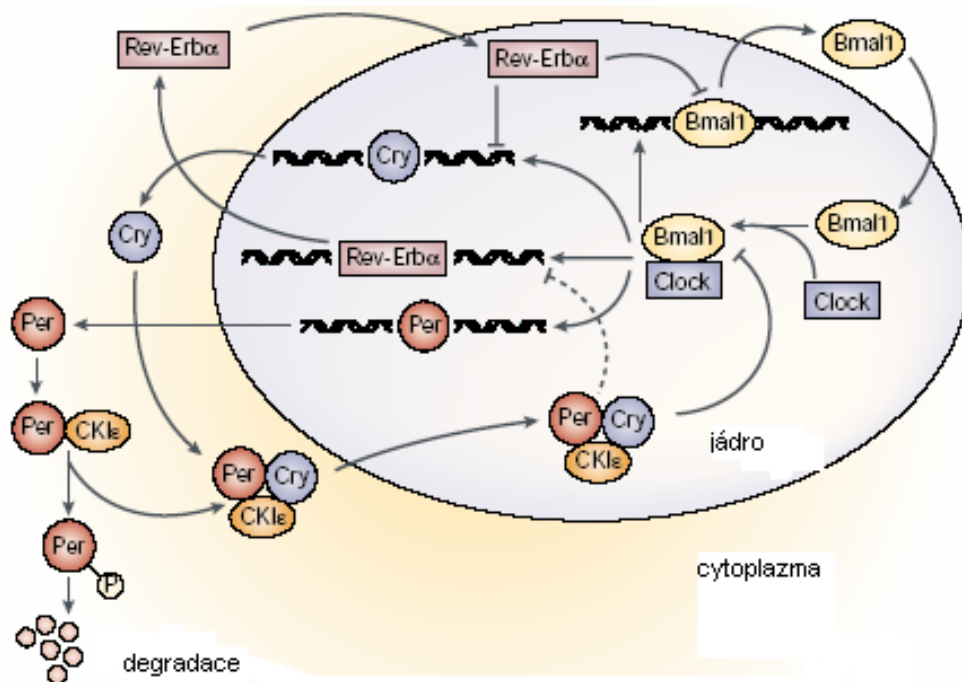
Dlouho nebylo známo, co je podstatou cirkadiánních rytmů. V posledních deseti letech však bylo zjištěno, že cirkadiánní oscilace jsou na molekulární úrovni způsobené rytmickou expresí hodinových genů a jejich vzájemnými zpětnovazebnými transkripčně-translačními smyčkami (Reppert a Weaver, 2001). Hodinové geny byly zkoumány především na modelech myši a octomilky (*Drosophilla melanogaster*). Jelikož se dále budu zabývat pouze savčími modely, popíši model vzniku cirkadiánních oscilací u myši. Pro označení genu či jeho mRNA budu dle zvyklostí používat zkratku začínající velkým písmenem, např. Clock, protein budu psát velkými písmeny, CLOCK.

Hodinové geny jsou ty geny, jejichž ztráta způsobuje poruchy cirkadiánních rytmů, případně arytmičnost. Patří mezi ně geny Per1, Per2, Cry1, Cry2, Clock, Bmal1, Rev-erb- α , Ror, CKI δ a CKI ϵ . Základní zpětnovazebná smyčka je tvořena hodinovými geny Per, Cry, Clock a Bmal1 a jejich proteiny. Hodinové geny Per a Cry fungují jako negativní elementy zpětnovazebné smyčky, tzn. zpětně inhibují svou vlastní transkripci. Pozitivní část zpětnovazebné smyčky tvoří geny Bmal1 a Clock. Tyto geny, přesněji řečeno proteinové produkty těchto genů, naopak stimulují transkripci genů Per a Cry. Na počátku subjektivního dne heterodimery proteinů CLOCK:BMAL1 vstupují do jádra a aktivují transkripci genů Per a Cry. V cytoplazmě se následně tvoří proteiny PER a CRY, které spolu vytváří heterodimery. Dimery vstupují do jádra, kde interagují s CLOCK:BMAL1 a negativně tím regulují transkripci svých vlastních genů Per a Cry. Fosforylace PER kasein kinázou (CKI ϵ) snižuje stabilitu proteinu, tudíž zpomaluje tvorbu dimerů. Fosforylovaný Per je snáze rozpoznán pro degradaci ubiquitylací. Samotný PER2 má funkci pozitivního regulátoru, jelikož aktivuje transkripci genu Bmal1, jehož produkty opět začínají tvořit dimery s CLOCK a celý cyklus se opakuje (Reppert a Weaver, 2001)(Obr. 1).

V další regulační smyčce jsou zapojeny geny Rev-erb- α a Ror. Heterodimer CLOCK:BMAL1 aktivuje transkripci Rev-erb- α a vytvořený protein REV-ERB- α zpětně inhibuje transkripci Bmal1. ROR naopak působí jako pozitivní transkripční regulátor Bmal1 (Preitner a spol., 2002)(Obr. 1).

Těmito složitými a propojenými mechanismy vzájemné regulace hodinových genů je zajištěno, že se jejich rytmická exprese opakuje s periodou přibližně 24 hodin. Expese genů

Per a Cry stoupá během dne, jelikož je aktivována heterodimerem CLOCK:BMAL1. Per a Cry mRNA dosahují maxima zhruba uprostřed subjektivního dne. Jejich produkty, dimery proteinů PER:CRY, jejichž tvorba je asi o 6 hodin opožděna, dosahují maximální koncentrace na konci subjektivního dne. Vstupují do jádra a inhibují aktivační vliv CLOCK:BMAL1, následkem čehož ustává transkripce Per a Cry. Hladina Per a Cry mRNA tedy dosahuje minima zhruba uprostřed subjektivní noci. Exprese Bmal1 je během dne inhibována REV-ERB- α , jehož tvorbu na počátku dne CLOCK a BMAL1 iniciuje. Na přelomu subjektivního dne a noci převáží aktivace Bmal1 pomocí PER2 a ROR. Exprese Bmal1 osciluje v protifázi k expresi Per a Cry, maxima dosahuje zhruba uprostřed subjektivní noci (Reppert a Weaver, 2001).



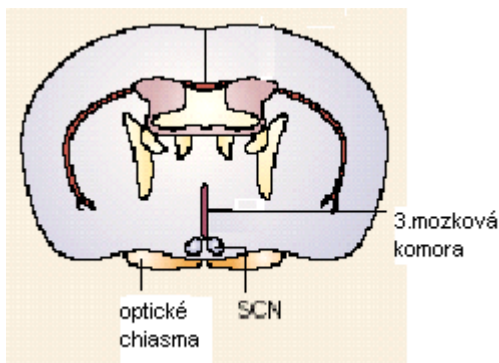
▲ Obr. 1.

Schéma vzniku cirkadiánních oscilací. Pro přehlednost jsou vynechány hodinové geny Ror a Per2. Upraveno dle Fu a spol., 2003

3. CIRKADIÁNNÍ SYSTÉM A JEHO SYNCHRONIZACE

3.1 CENTRÁLNÍ HODINY V SUPRACHIASMATICKÝCH JÁDRECH (SCN)

Centrální oscilátor (pacemaker) je u savců umístěn v suprachiasmatických jádrech (suprachiasmatic nuclei, SCN) hypotalamu (Obr. 2).



◀Obr. 2. Umístění suprachiasmatických jader na příčném řezu mozku. Upraveno dle Fu a spol., 2003

Léze SCN způsobuje ztrátu rytmicity jak v chování, tak v tělesné teplotě, vychytávání glukózy, či v endokrinní sekreci kortikosteroidů a melatoninu (Silver a Schwartz, 2005). Pacemaker je složen z mnoha buněk, které vytváří samoudržující oscilace. Jednotlivé buňky jsou tedy schopny samostatně vytvářet oscilace, ty však musí být synchronizovány, aby byla umožněna tvorba jednotné výstupní informace. U neuronů SCN pěstovaných *in vitro* odděleně jsou měřitelné cirkadiánní rytmy v elektrické aktivitě. Tyto rytmy vykazují u jednotlivých neuronů různou fázi a dokonce i různou periodu lišící se od 24 hodin (Welsch a spol., 1995). Synchronizace buněk k jedné periodě blížící se 24 hodinám se děje především na humorální úrovni. Důležitými neurotransmitery v této synchronizaci jsou zejména vasoaktivní intestinální peptid (VIP), kyselina gama amino máselná (GABA), arginin vasopresin (AVP), gastrin uvolňující peptid (GRP) a glutamát. Při mutaci genu pro receptor pro VIP dochází k desynchronizaci v rytmech elektrické aktivity neuronů a ke snížení jejich amplitudy. Depolarizace neuronů či GRP dokáží neurony synchronizovat pouze na krátkou dobu, zhruba po třech cyklech neurony oscilují opět v různých fázích. VIP je tedy nepostradatelný neuropeptid pro synchronizaci neuronů v SCN (Maywood a spol., 2006).

3.2 PERIFERNÍ HODINY

Hodinové geny a jejich rytmická exprese se nevyskytují jen v centrálním pacemakeru. V nedávné době se ukázalo, že jsou rytmicky exprimovány i v periferních tkáních, např. v retině, játrech, svalech, tuku, ledvinách či srdci. Panovala však myšlenka, že za rytmicitu periferních tkání je přímo zodpovědné SCN. Tým Yoo a spol. (2004) však ukázal, že periferní buňky dokáží samostatně oscilovat i jsou-li izolovány od SCN. Po chirurgickém odstranění SCN však dochází k postupnému vymizení nebo snížení amplitudy rytmů v periferních orgánech v důsledku desynchronizace jednotlivých rytmických buněk (Akhar a spol., 2002). Buňky periferní tkáně rytmicky transkribují různé geny, fáze cyklu je však centrálně koordinována ze SCN pomocí neurálních, endokrinních a metabolických cest. Změny v některém z těchto vztahů vedou k nejrůznějším poruchám. Pro tkáně není specifická jen transkripce určitých genů, ale i pořadí a načasování, kdy k ní dochází (Hastings a spol., 2003).

3.3 SYNCHRONIZACE CIRKADIÁNNÍHO SYSTÉMU

Vnitřní cirkadiánní rytmy v SCN jsou synchronizovány s vnějším dnem vstupními signály. Nejsilnějším synchronizátorem je pravidelné střídání světlé a tmavé části dne s periodou 24 hodin dané otáčením Země okolo své osy. Informace o světelném signálu přichází z retiny retinohypotalamickým traktem (RHT) přímo do hypotalamu. Pokud by organismy žily v nerytmickém prostředí, běžely by jejich cirkadiánní hodiny s vnitřní periodou τ (tau), která by se blížila, ale nerovnála by se 24 hodinám. τ je charakteristické pro ten který druh. U zvířat, kterým byla provedena léze SCN a voperováno SCN dárce, běžely cirkadiánní hodiny s vnitřní periodou dárce (Ralph a Lehman, 2005). Pokud je τ mírně delší než 24 hodin, jako je tomu většinou u člověka, musí se vnitřní pacemaker denně lehce předběhnout. Pokud je naopak kratší, jako např. u myši domácí, pacemaker se musí každý den zpozdít, aby bylo dosaženo synchronizace s 24 hodinovým dnem. Tato synchronizace je umožněna tím, že světlo zvečera a v první polovině subjektivní noci hodiny zpožďuje, zatímco světlo v druhé polovině subjektivní noci a zrána je naopak předbíhá. Kromě světla jsou dalšími, byť podstatně slabšími, synchronizátory i např. pohybová aktivita či melatonin. Melatonin je hormon produkováný epifýzou. Vykazuje výrazný cirkadiánní rytmus s nárůstem během subjektivní noci. Jeho signál informuje organismus nejen o denní době, ale i o délce fotoperiody a tím i o roční době. Zpětným vlivem na SCN může působit i jako

synchronizátor, působí však v antifázi k účinku světla. Melatonin podávaný večer způsobuje předběhnutí hodin, jeho ranní podávání hodiny zpožďuje. Terapie večerním podáváním melatoninu se úspěšně využívá u některých slepých lidí, jejichž hodiny mají vnitřní periodu delší než 24 hodin a nelze u nich použít synchronizaci světlem. Ovšem ne všichni slepí jedinci mají problém se synchronizací s 24 hodinovým dnem. U některých to může být způsobeno tím, že mají svou vnitřní periodu velmi blízkou 24 hodinám. Kromě toho při pokusu se slepými lidmi vystavenými jasnému světlu v noci někteří z nich vykazovali snížení hladiny melatoninu v odpovědi na světlo srovnatelné s normálně vidícími kontrolami (Cziesler a spol., 1995). Další studie se slepými myšmi postrádajícími v sítnici tyčinky i čípky ukázala, že mohou být normálně synchronizovány světlem (Foster a Hankins, 2002). Tyto výsledky nabízejí možnost, že na přijímání světelného synchronizujícího signálu se podílí i jiný fotoreceptor než jen tyčinky a čípky. Tímto receptorem, který nezprostředkovává vidění, by mohly být fotosenzitivní gangliové buňky v retině produkující fotopigment melanopsin. Myši se sítnicí postrádající melanopsin zůstávají synchronizovány s vnějším dnem, neboť tyčinky a čípky stačí pro cirkadiální fotorecepci. Ztráta tyčinek, čípků i melanopsinu má však za následek ztrátu synchronizace světlem (Panda a spol., 2003).

Narozdíl od SCN nejsou periferní hodiny přímo synchronizovány světlem, neboť postrádají přímé spojení s retinou. Jsou však synchronizovány signály z SCN, které toto spojení má. Periferní hodiny mohou být synchronizovány i omezením příjmu potravy (restricted feeding, RF). Při RF je nočním zvířatům, která normálně přijímají většinu jídla během noci, příjem potravy umožněn pouze během dne, nejčastěji v polovině subjektivního dne. RF při režimu světlo/tma (LD, light-dark) i při stálé tmě (DD, dark-dark) dokáže změnit fázi exprese hodinových genů *Per1*, *Per2* a *Cry1* v periferní tkáni až o 12 hodin, zatímco exprese těchto genů v SCN zůstává nezměněna. Dochází k oddělení fáze rytmů v periférii od fáze v SCN. Fázové změny jsou postupné, každá tkáň reaguje jinak rychle. Nejrychleji se nastavuje čas v játrech, během týdne se ale fázový posun u všech periferních tkání vyrovná. Při RF výrazně klesá tělní teplota v noci, kdy je u myší krmených *ad libitum* nejvyšší. Tato změna by mohla být společně s chemickými mediátory působícími selektivně na periférii faktorem napomáhajícím k resynchronizaci periferní tkáně (Damiola a spol., 2000).

Studie Mendozy a ostatních (2004) ukázala, že RF může synchronizovat i SCN, ale pouze v případě, že je spojeno i s omezením kalorické dávky. Myši krmené v poledne normokalorickou stravou měly sníženou hladinu glukózy v odpoledních hodinách, ale nevykazovaly změny ve fázi pohybové aktivity ani sekreci vasopressinu v SCN. Myši krmené

v poledne hypokalorickou stravou měly také sníženou denní hladinu glukózy, ale o 2-4 hodiny se jim předběhla fáze v rytmu pohybové aktivity a v rytmu transkripce vasopressinu a melatoninu. Rovněž exprese Per1 a Cry2 v SCN vykazovala fázový posun pouze u hypokaloricky krměných myší. Fáze Per2 a Bmal1 zůstala nezměněna bez ohledu na krmění. Tato pozorování mohou být výsledkem kompetice kalorického a světelného synchronizátoru na molekulární zpětnovazebné smyčky cirkadiálního systému.

4. Hierarchie řízení cirkadiálního systému, fyziologický význam

Některé hodinové geny mohou působit i jako transkripční faktory a rytmicky spínat expresi u tzv. hodinami řízených genů (clock controlled genes, CCGs). Transkripce CCGs je regulována cirkadiálními hodinami, ovšem na rozdíl od hodinových genů nejsou jejich proteiny součástí zpětnovazebných smyček a tudíž nejsou nezbytné pro fungování hodin. Některé CCGs jsou regulovány přímo heterodimerem CLOCK:BMAL1 stejně jako hodinové geny (Reppert a Weaver, 2001). Tyto tzv. CCGs prvního řádu pak mohou dále rytmicky působit na promotory různých genů kodujících funkční proteiny. Tímto způsobem je rytmický signál předáván a přenášen na řízení různých fyziologických funkcí. CCGs jsou zodpovědné za pozorovatelné výstupní rytmy. Mezi nejvýznamnější CCGs patří AVP (arginin vasopresin), DBP (albumin D-element binding protein), c-Myc a p53. C-Myc a p53 se účastní kontroly řízení buněčného dělení (viz kap. 5.2). AVP působí jako neurotransmitter. DBP je zapojen v kontrole pohybové aktivity, spánku a rytmické exprese enzymů jater. Vykazuje výrazný cirkadiální rytmus v SCN i v periferních tkáních (Ripperger a spol., 2000). Centrální hodiny řídí autonomní nervový systém a neuroendokrinní systém. Tyto systémy dále působí na periferní oscilátory a seřizují je.

5. Poruchy cirkadiální regulace fyziologických dějů

Cirkadiální systém výrazně ovlivňuje nejrůznější fyziologické děje. Proto při poruchách tohoto systému může docházet k různým nestandardním či dokonce patologickým stavům. Při nejrůznějších onemocněních jsou pozorovatelné poruchy cirkadiálních rytmů ve spánku a

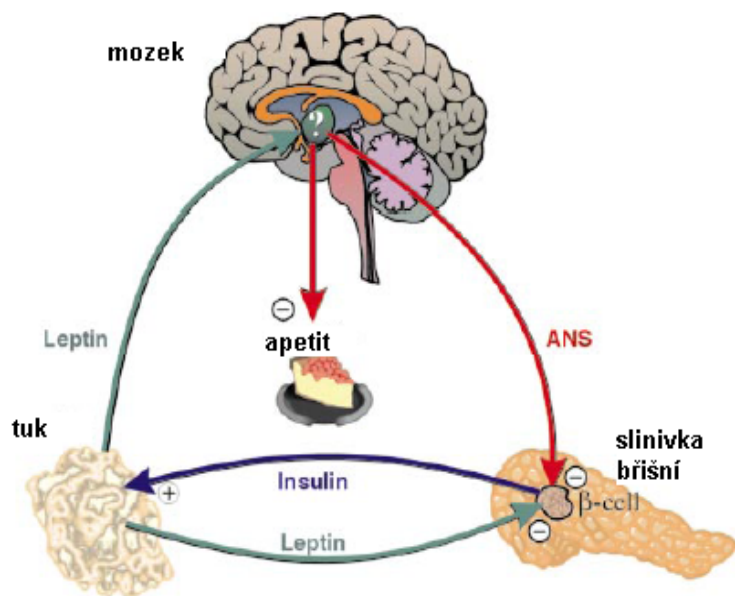
bdění, tělní teplotě, hladině hormonů atd. U některých onemocnění je výskyt patologických stavů častější v určitých denních či nočních hodinách, což též nabízí možnost propojení s cirkadiánním systémem. Např. výskyt akutních srdečních či mozkových příhod vykazuje maximum v ranních hodinách v souvislosti s cirkadiánními změnami krevního tlaku (Hastings a spol., 2003). Mezi další nemoci spojované s časovým systémem patří např. epilepsie, Alzheimerova choroba, nervosvalové poruchy, roztoušená skleróza, bolesti hlavy, obezita, poruchy spánku a nádorová onemocnění (Turek a spol., 2001). Jelikož ve své práci nemám dostatek prostoru věnovat se všem vyjmenovaným poruchám, vybrala jsem si pro podrobnější studii pouze popis vztahu cirkadiánního systému k obezitě, nádorovým onemocněním a poruchám spánku.

5.1 OBEZITA

Periferní hodiny, jak již bylo zmíněno výše, se nacházejí i v tukové tkáni. Poruchy těchto hodin vedou ke změnám rytmického vyplavování hormonů důležitých pro energetickou rovnováhu organismu. Tyto změny mohou vyústit např. ve vývoj obezity, která je spojena se zvýšeným rizikem výskytu cukrovky či kardiovaskulárních chorob, což je vedle estetického a psychického hlediska hlavní důvod, proč je obezita intenzivně studována na různých úrovních.

5.1.1 Regulační mechanismy příjmu potravy

Tuková tkáň produkuje hormony leptin a adiponektin. Ze slinivky břišní je vylučován inzulín, z žaludku ghrelin a cholecystokinin. Tyto hormony slouží jako regulační signály, které se dostávají do hypotalamu. Ghrelin stimuluje apetit podporou činnosti hypotalamických neuronů produkujících orexigenní neuropeptid Y (NPY). Leptin je naopak hormon indukující pocit sytosti. Inhibuje sekreci NPY, sekreci ghreluinu i sekreci insulínu, který způsobuje ukládání tuku (Shintani a spol., 2001). Insulin naopak stimuluje produkci leptinu. Jelikož je hladina plazmatického leptinu přímo úměrná velikosti tukové tkáně, která jej produkuje, nárůst tukové tkáně zvedá hladinu leptinu, ten inhibuje produkci insulínu, tudíž i dalšího ukládání tuku (Obr. 3). Tímto mechanismem je zajištěná homeostáza.



◀Obr.3: Schéma adipoinsulární regulace příjmu potravy. Leptin produkovaný tukovou tkání působí na hypothalamus. Ten vysílá signál potlačující apetit a přes autonomní nervový systém inhibuje sekreci insulínu, který podporuje ukládání tuku a produkci leptinu. Leptin inhibuje sekreci insulínu i přímým působením na β -buňky slinivky. Upraveno dle Kieffer a spol., 2000

Leptin injikovaný do hypothalamu myši má stejný účinek jako půst: způsobuje drastický pokles leptinu, insulínu a volných mastných kyselin v krvi a úbytek váhy (Ueno a spol., 2004). Díky této schopnosti se o centrálním leptinu uvažuje jako o možném terapeutiku při léčbě obezity.

U obézních jedinců je porušená hormonální rovnováha. Jelikož mají hodně tukové tkáně, trvale se vytváří hodně leptinu, což dlouhodobě vyvolává sníženou odpověď na leptin a insulín proto není dostatečně inhibován. Hyperinsulinémie vede k dalšímu nárůstu tukové tkáně a vytváří se pozitivní zpětná vazba (Kieffer a spol., 2000). Trvalou hyperleptinémií a hyperinsulinémií může vyvolat i nadměrně velký příjem tuků.

Je známo, že k obezitě existují genetické předpoklady. Otukonyng se spolupracovníky (2005) při pokusu se dvěma kmeny myši - jedním odolným a druhým náchylným k vývoji obezity - potvrdil, že mezi nimi existují rozdíly v denní sekreci insulínu a ghrelinu. Při krmení vysokokalorickou stravou si odolné myši zachovaly všechny regulační mechanismy, ale myši náchylné k obezitě měly porušenou regulaci hormonů. Vykazovaly vysokou hladinu plazmatického insulínu a leptinu a sníženou sekreci ghrelinu, což vedlo k vývoji obezity mechanismy popsanými výše.

5.1.2 Cirkadiánní poruchy regulace příjmu potravy

Hormony metabolické regulace vykazují cirkadiánní rytmy. Rytmus ghrelinu u člověka koreluje s rytmem leptinu, tzn. nárůst během dne s maximem okolo 1 hodiny v noci a poklesem ráno (Cummings a spol., 2001). Hladina insulinu u člověka vykazuje též endogenní cirkadiánní rytmus se vzrůstem během noci a maximem na počátku subjektivního dne. Ovšem změny v rytmu spánek/bdění či příjmu potravy mohou tyto rytmy narušit (Shea a spol., 2005). Proto jsou rizikovou skupinou pro výskyt obezity lidé pracující na směny či často létající přes časová pásma, jelikož synchronizace jejich cirkadiánních rytmů s vnějším dnem je narušena.

Poruchy regulace hladiny ghrelinu jsou příčinou vzniku různých nemocí. Např. Prader-Willi syndrom je genetická porucha doprovázená velkou chutí k jídlu, tudíž často i obezitou. Obrovský apetit je způsoben zvýšenou hladinou ghrelinu, která je během celého dne tři- až čtyřikrát vyšší než u zdravých jedinců (Paik a spol., 2006).

Regulace metabolismu je těsně spojena s hodinovými geny. Myši s mutací v genu *Bmal1* nebo *Clock* vykazují narušený metabolismus glukózy a mají potlačen její denní rytmus v plazmě (Rudick a spol., 2004). Jiná studie ukázala, že *Clock* mutantní myši mají zvýšenou hladinu plazmatického leptinu, insulinu i lipidů a jsou obézní (Turek a spol., 2005).

V tukové tkáni bylo identifikováno na 650 CCGs, které vykazují cirkadiánní rytmy shodné s jaterní tkání. RF způsobil fázový posun těchto rytmů v tukové tkáni. Tento posun nebyl stejný u všech genů a ve všech typech tukových tkání. Jelikož jednotlivé geny mají unikátní regulační mechanismy, RF na ně působil různým způsobem (Zvonic a spol., 2006).

Poruchy cirkadiánních rytmů v příjmu potravy mohou vyústit v různé nemoci, např. v syndrom konzumace jídla v noci (night eating syndrom, NES). NES je charakterizován ranním nechutenstvím, večerním přejídáním se a častým probouzením v noci spojeným s příjmem potravy. NES je často spojen s obezitou. Celkový denní kalorický příjem není u pacientů s NES vyšší než u kontrolních jedinců, ale liší se rozložení dávek během dne. NES vykazuje fázové zpoždění v rytmu příjmu potravy vzhledem k cyklu spánek/bdění (Reardon a spol., 2004). Princip syndromu tedy může být stejný jako při RF. NES může být vyvolán stresem, jelikož stres způsobuje časté noční probouzení. Pokud stresované osoby začnou jíst během těchto nočních probouzení, mohou si způsobit přecházení periferních hodin a fázový posun příjmu potravy vzhledem k rytmu spánku a mohou se tak octnout v bludném kruhu.

Nejnovější studie naznačují, že existuje spojitost mezi nedostatkem spánku a obezitou. Spánek i příjem potravy jsou regulovány hypotalamem a ukazuje se, že tyto regulační dráhy jsou úzce propojeny. Nedostatek spánku totiž způsobuje sníženou citlivost na leptin, což

způsobuje hyperinsulinémií a obezitu mechanismy popsány výše. Studie Ganqwische a spolupracovníků (2005) ukázala, že lidé spící pouze 5 hodin denně mají o 60% větší pravděpodobnost, že budou obézní, než ti, co spí 7 a více hodin. Tyto výsledky však nemusí nutně být důsledkem propojení mechanismů, které kontrolují apetit a spánek, ale mohou být zkresleny tím, že lidé, kteří méně spí, mají více času jíst, jsou unavení, tím pádem i deprimovaní a ztrácejí motivaci žít zdravě. Obézní lidé zároveň mohou mít slabý spánek právě proto, že jsou obézní a mají zdravotní potíže. O vzájemném propojení mechanismů, kterými spánek ovlivňuje apetit, svědčí ale i výsledky experimentů na zvířecích modelech: Clock mutantní myši ztrácí normální vzorce spánku, jídla a aktivity a stávají se obézní (Turek a spol., 2005).

5.2 NÁDOROVÁ ONEMOCNĚNÍ

Nádory vznikají nekontrolovanou proliferací buněk. Nádorové buňky dokáží uniknout z mechanismů kontroly buněčného dělení a apoptózy, ve kterých je zapojen i cirkadiální systém. Buněčný cyklus prochází čtyřmi fázemi: M, G1, S a G2. V M fázi probíhá mitóza, G1 a G2 fáze jsou interfáze, během nichž buňka roste, v S fázi dochází k replikaci DNA. Před vstupem do každé fáze musí buňka projít kontrolním bodem, ve kterém zjistí, zda není poškozená její DNA, zda je buňka dostatečně velká či zda jsou vhodné okolní podmínky pro vstup do nové fáze. Před vstupem do M fáze je kontrolováno, zda je všechna DNA správně replikována. Pokud buňka nesplňuje některou z těchto podmínek, není puštěna do další fáze. Pokud nedojde k opravě, spouští se signální kaskáda pro kontrolovanou buněčnou smrt (apoptózu). Tímto mechanismem buňka zabraňuje šíření mutací. Mezi proteiny účastníci se regulace buněčného dělení v kontrolních bodech patří p53 a c-Myc, viz. kap. 5.2.1.

5.2.1 Regulace buněčného dělení

Centrální hodiny regulují buněčné dělení a apoptózu v periferních orgánech přes CCGs, autonomní nervový systém (ANS) a neuroendokrinní systém (nejdůležitějšími hormony regulujícími buněčný cyklus jsou glukokortikoidy a gonadotropiny). Poruchy těchto regulačních mechanismů vedou k deregulaci kontroly buněčného cyklu a onkogenezi. ANS a

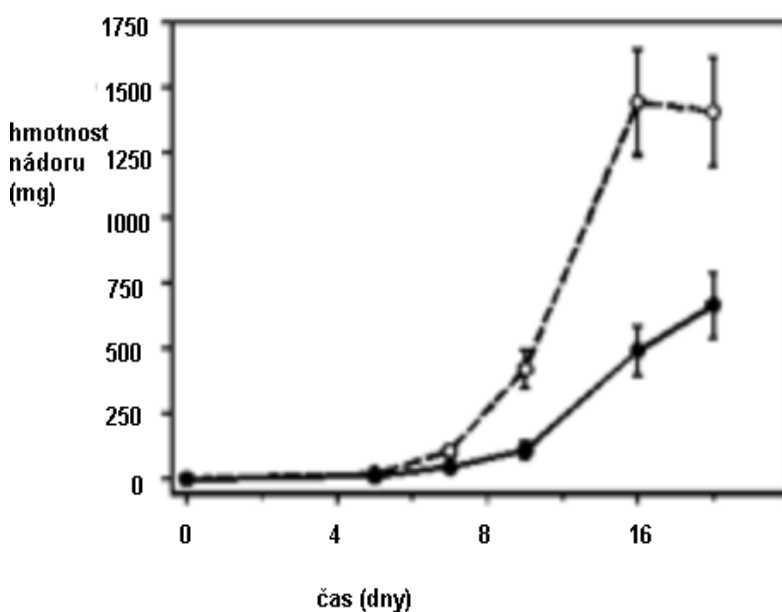
neuroendokrinní systém dokáží rovněž modulovat imunitní odpověď a tak ovlivňovat vývoj nádorů. Moduluje rovněž produkci cytokinů a leukocytů (Fu a spol., 2003).

Důležité CCGs zapojené v regulaci buněčného cyklu jsou c-Myc, p53, různé kaspázy, cykliny a transkripční faktory. C-Myc působí jako onkogen, brání apoptóze, jeho nadměrná exprese způsobuje dělení buněk i s poškozenou DNA. P53 je transkripční faktor působící jako tumorsupresorový gen, inhibuje aktivitu c-Myc, aktivuje opravy DNA či apoptózu poškozených buněk (Fu a spol., 2003).

5.2.2 Poruchy cirkadiálního systému s vlivem na buněčné dělení

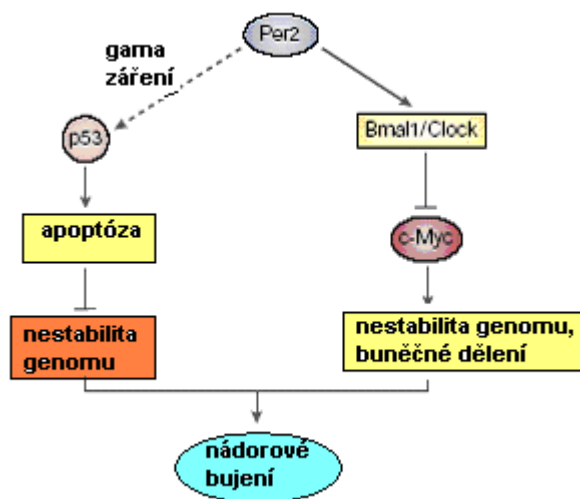
Vliv poruch synchronizace cirkadiálních rytmů na růst nádorů byl zkoumán v laboratorních podmínkách, přičemž poruchy rytmů byly vyvolány lézí SCN (Filipski a spol., 2002, 2003, 2006), mutacemi hodinových genů (Fu a spol., 2002), omezeným příjmem potravy (RF) (Davidson a spol., 2006), vystavením organismu stálému světlu (Shah a spol., 1984) nebo simulovanému chronickému „jet lagu“ (zpožděnému přizpůsobení se vnitřního času organismu přeletu časových pásem) (Filipski a spol., 2006).

Léze SCN vedla ke změně denních profilů v sekreci kortikosteronu a počtu cirkulujících lymfocytů. Byl zaznamenán dva- až třikrát rychlejší růst nádoru a tím i kratší doba přežívání nemocných zvířat (Obr. 4) (Filipski a spol., 2002, 2003, 2006).



◀Obr. 4: Růst nádorů kostní tkáně u myši s lézí SCN (zakresleno otevřenými kroužky) a u myši s falešnou operací (plné kroužky). Upraveno dle Filipski a spol., 2006

Mutace genu Per2 způsobila větší náchylnost myši k nádorovému bujení. Per2 mutantní myši měly porušenou regulaci c-Myc, jeho cirkadiální exprese byla signifikantně zvýšená. Per2 mutantní myši byly rovněž p53 deficientní. Funkční gen Per2 tedy působí protinádorově modulací odpovědi p53 a c-Myc na poškození DNA (Obr. 5) (Fu a spol., 2002). Gen Per2 rovněž moduluje imunitní odpověď (Liu a spol., 2006).



◀Obr.5: Schéma působení cirkadiálního systému na nádorové bujení. Upraveno dle Fu a spol. 2003

U myši vystavených chronickému „jet lagu“ byla oproti kontrolám pozorována snížená exprese Per2 i Rev-erba v jaterní i nádorové tkáni (Filipski a spol., 2006).

Při krmení myši ve dne (RF) se změnila fáze cirkadiální exprese genu Per1 v periferních tkáních, při čemž nádorová tkáň byla na RF méně citlivá než tkáň zdravá. Toto vedlo k odlišení fáze rytmů mezi nádorovou a zdravou tkání myši. Zatímco ve zdravé jaterní tkáni RF posunulo fázi o 11,5 hodiny oproti myším krmeným *ad libitum*, v nádorové tkáni byl tento posun pouze o 6,3 hodiny (Davidson a spol., 2006). Tato odlišnost fází cirkadiálních rytmů mezi zdravou a nádorovou tkání by mohla vést k vývoji nové terapie při léčbě nádorů- tzv. chronoterapie. Léčiva užívaná při léčbě nádorů většinou selektivně napadají dělící se buňky. Proto podávání léčiv v určitou denní dobu, kdy se nádorová tkáň nejvíce dělí, zatímco zdravá tkáň je v klidové fázi, by mohlo maximalizovat účinky látky na nádor a zároveň minimalizovat poškození ostatní zdravé tkáně (Fu a spol., 2003).

Významným hormonem zapojeným v regulaci nádorového bujení je melatonin. Melatonin může inhibovat gonadotropiny, které regulují výlev hormonů z gonád (testosteronu u mužů a estrogenů u žen). Snížená noční sekrece melatoninu vede ke zvýšené aktivitě gonadotropinů, tudíž i k vyšší tvorbě pohlavních hormonů, což může být rizikový faktor pro vývoj nádorů. Opačný vztah, tedy regulace melatoninu hormonu, nebyl zaznamenán (Davis a spol.,2006).

Melatonin má řadu dalších funkcí: může působit jako antioxidant, vylučovat volné radikály, modulovat imunitní odpověď především T-lymfocytů a monocytů, podporovat expresi p53 a mít tak onkostatické účinky (Ravindra a spol., 2006). In vitro byla pozorována až 80% inhibice dělení nádorových buněk mamy při přidání fyziologických dávek melatoninu do média (Hill a spol., 1988).

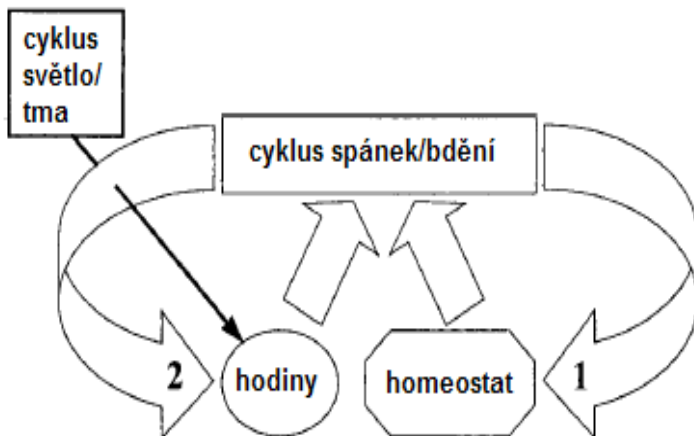
Vystavení intenzivnímu světlu v noci vede ke snížení noční produkce melatoninu. Toto možné snížení je dáváno do souvislosti se zvýšeným rizikem výskytu nádoru prsu u žen dlouhodobě pracujících na noční směny (Schernhammer a spol., 2001). Vliv světla v noci na melatonin a nádorové bujení byl studován na modelu samic potkana vystavených karcinogenu 7,12-dimethylbenzanthracenu (DMBA). Riziko vzniku nádoru bylo signifikantně zvýšené u samic vystavených od narození stálému světlu. Exogenní podávání melatoninu po ukončení podávání DMBA mělo léčebný účinek: během 6 měsíců se snížil výskyt nádoru o 70%. U samic, kterým byla snížena produkce melatoninu chirurgickým odstraněním epifýzy byl tento léčebný účinek menší: výskyt nádoru se snížil pouze o 30%. Pro výrazné snížení výskytu nádorů pomocí melatoninu je tedy nutná přítomnost epifýzy (Shah a spol., 1984).

Tvorbu melatoninu může snížit také elektromagnetické pole. Inhibuje jeho produkci a zároveň vytváří volné radikály, tudíž se melatonin, který už je vytvořen, spotřebuje na jejich vylučování (Ravindra a spol., 2006). Jako zvířecí model pro studium nádoru prsu použil Mevissen a spolupracovníci (1996a) rovněž samice potkana vystavené DMBA. Pokusné samice byly po dobu 3 měsíců vystaveny 50 Hz, 50 microT magnetickému poli. U samic vystavených DMBA i magnetickému poli bylo pozorováno signifikantně více nádorů mamy než u kontrol vystavených pouze DMBA. Byla pozorována snížená proliferace T-lymfocytů. Překvapivě však nebylo na rozdíl od předchozích studií (Kato a spol., 1993, Mevissen a spol., 1996b) zaznamenáno signifikantní snížení hladiny melatoninu, a to i přesto, že byla použita větší síla magnetického pole. Oproti předchozím studiím, kdy byla zvířata vystavena magnetickému poli maximálně po dobu 6 týdnů, v této studii pole působilo téměř 3 měsíce, což mohlo vyvolat částečnou adaptaci epifýzy. Ovšem přesto, že nebyla snížena hladina melatoninu, vliv pole na T-lymfocyty a růst nádoru zaznamenán byl. Jako možné vysvětlení se nabízí obtížná statistická reprodukovatelnost výsledků v důsledku velkých rozdílů v hladině melatoninu mezi jednotlivými zvířaty. Jako další vysvětlení Mevissen se spolupracovníky nabízí možnost, že pro inhibiční vliv magnetického pole na onkostatické účinky melatoninu jsou důležitější interakce na buněčné úrovni než přímo vliv magnetického pole na syntézu melatoninu. Toto vysvětlení se však zdá být v rozporu s faktem, že v předchozích studiích hladina melatoninu snížena byla. Rytická tvorba melatoninu je

zřejmě pouze jednou z možných cest, jimiž cirkadiánní systém na vývoj nádoru může působit. Je možné, že v kontrole buněčného dělení jsou zapojeny i jiné cirkadiánní mechanismy, které v současnosti ještě neznáme.

5.3 SPÁNEK

Spánek je regulován dvěma propojenými mechanismy - cirkadiánním a homeostatickým systémem (Obr. 6). Centrum homeostatické regulace je rozptýleno v různých částech mozku a při spánkovém dluhu zajišťuje nutkání jít spát. Významnými neuropeptidy homeostatického systému jsou orexiny (dříve nazývané hypokretiny) produkované hypotalamem. Orexiny kromě spánku regulují i příjem potravy, viz. kap. 5.1. Poruchy v regulaci orexiny přispívají ke vzniku narkolepsie, nemoci, při které postižená osoba upadá náhle v kteroukoli denní dobu v krátkodobý spánek (Taheri a spol., 2004). Cirkadiánní systém řídí převážně správné načasování spánku a zejména probouzení se z něho než samotný průběh spánku.



◀Obr. 6: Cyklus spánku a bdění je regulován cirkadiánními hodinami a homeostatickým systémem. Cirkadiánní hodiny jsou ovlivněny střídáním světlé a tmavé části dne. Cyklus spánek/bdění zpětně působí na homeostatický (1) i cirkadiánní systém (2).

Upraveno dle Dijk a spol., 2002

5.3.1 Vliv cirkadiánního systému na spánek

Cirkadiánní modulace spánkové struktury a kompaktnosti odpovídá cirkadiánním rytmům v tvorbě melatoninu a tělesné teplotě (Dijk a spol., 1999). SCN vysílá signál, který zajišťuje večerní vzestup melatoninu a začátek spánku. Podávání exogenních dávek melatoninu během dne zvyšuje tendenci k usínání během dne. Charakter spánku je určen velikostí dávky - dávka pod 5 mg navodí podobný spánek, jaký je během noci, vyšší dávka zvedá podíl REM spánku (z angl. rapid eye movement) (Dijk a spol., 1997).

Léze SCN u kotula veverkovitého (druhu americké opičky) vedla k fragmentaci spánku, přestože celková délka spánku byla delší. Kotul veverkovitý byl vybrán za modelový organismus, jelikož je s člověkem příbuznější než hlodavci, na kterých se pokusy běžně provádí (Edgar a spol., 1993).

Jelikož člověk má vnitřní periodu většinou mírně delší než 24 hodin, začátek spánku má tendenci se posouvat směrem k pozdějším hodinám, pokud chybí vnější synchronizace. Je tedy nutné dodržovat pravidelný denní režim k udržení 24 hodinového cyklu. Pokud dochází často ke změnám ve spánkových návycích (např. užíváním sedativ či nečekanými nočními směnami), nastává desynchronizace rytmu spánek/bdění vůči ostatním cirkadiánním rytmům. To může vyústit ve zhoršení kvality nočního spánku i v ospalost a vyčerpanost během dne.

5.3.2 Spánkové poruchy

V načasování spánku se mohou vyskytnout dvě poruchy: syndrom zpožděné fáze spánku (delayed sleep phase syndrom, DSPS) a syndrom předběhnuté fáze spánku (advanced sleep phase syndrom, ASPS). ASPS je charakterizován spánkem začínajícím kolem 8. hodiny večerní a končícím kolem 4. hodiny ranní. Stejně předběhnuty jsou i rytmy v tvorbě melatoninu a tělesné teplotě. ASPS je spojován s bodovou mutací v genu *Per2*, která vede k nahrazení jednoho serinu jedním glycinem v proteinu *Per2*. Na serin se váže CKIε a fosforyluje protein. Jelikož na glycin se nemůže CKIε vázat, dochází k hypofosforylaci proteinu *Per2*, tím i k jeho pomalejší degradaci a urychlení vstupu proteinu do jádra. Druhý gen, jehož mutace způsobuje hypofosforylaci *Per2*, je CKIε. ASPS způsobený mutací v některém z těchto genů je dědičný, označuje se jako FASPS (family advanced sleep phase syndrom) (Toh a spol., 2001).

Pro osoby s velmi dlouhou vnitřní periodou blíží se 25 hodinám je náročné seřadit jejich spánkový rytmus s 24 hodinovým cyklem, zejména, pokud jdou několik dní po sobě spát později než obvykle. Je u nich vyšší pravděpodobnost vyvinutí DSPS. DSPS se vyskytuje častěji než ASPS. K rozvinutí DPSP vede souhra více faktorů: vedle biologického nastavení i faktory prostředí, sociální a psychologické (Thorpy a spol., 1988). DPSP se často vyskytuje ve spojení s depresí (Regestein a spol., 1995). Osoby s DSPS chodí spát až v pozdní noci kolem 3.-4. hodiny ráno a vstávají kolem poledne. Pokud je společenské tlaky nutí vstávat ráno, např. do práce či do školy, je to pro ně velmi obtížné. Pokud pracují odpoledne či přes noc, tento stav jim obvykle není na obtíž, při nočních směnách je naopak výhodou.

Mladí lidé mají predispozice pro DSPS vzhledem k tendenci chodit pozdě spát. Mají rovněž fázově opožděné maximum v koncentraci plazmatického kortisolu (Sherman a spol., 1985). Studii na adolescentech trpících DSPS provedl Okawa a spolupracovníci (1998). Adolescenti měli problémy se školní docházkou, neboť odmítali ráno vstávat. Léčba byla založená na chronobiologických znalostech. Jako první fáze léčby byl ustanoven pravidelný denní režim, který byli pacienti nuceni dodržovat. Dále byl pacientům regulován světelný režim tak, že byli vystaveni rannímu slunečnímu světlu. Pokud tato terapie nebyla účinná, bylo ráno použito i umělé osvětlení o vysoké intenzitě. Léčba světlem byla kombinována s podáváním methylkobaltaminu (vit. B12). Aplikace methylkobaltaminu podporuje odpověď na světlo. Methylkobaltamin zvyšuje fázový posun či supresi tvorby melatoninu v odpověď na světlo během noci (Hashimoto a spol., 1996). Jako další možný léčebný prvek byla použita aplikace melatoninu 1-2 hodiny před plánovaným začátkem spánku. Jelikož pro pacienty s DSPS je nesmírně obtížné posunout spánek do dřívějších ranních hodin, byla jim ustanovena hodina, kdy mají chodit spát pomocí chronoterapie. Pacienti chodili po dobu 5 dnů spát každý den o 3 hodiny později, což pro ně bylo snadné. Tím se jim ale za 5 dní spánek posunul o 15 hodin dozadu, tudíž o 9 hodin dopředu. Hodinu, kdy šli spát poslední den, už byli nuceni nadále dodržovat. Tyto metody byly různě kombinovány vzhledem k potřebám konkrétních pacientů. Jako nejúčinnější se ukázala léčba světlem případně kombinovaná s methylkobaltaminem. Methylkobaltamin samostatně bez kombinace se světlem nevykazoval žádnou účinnost.

Podobnou studii léčby DSPS, ale na dospělých pacientech, provedl Regestein a spolupracovníci (1995). K léčbě intenzivním světlem zrána přidali večerní nošení slunečních brýlí a rozšířili léčbu podáváním melatoninu. Dávka melatoninu byla načasována na začátek večerního vzestupu endogenního melatoninu.

S věkem jsou spojeny cirkadiánní změny v načasování, kompaktnosti a struktuře spánku. Tyto změny jsou způsobeny změnami v cirkadiánní i homeostatické regulaci spánku. S vyšším

věkem klesá amplituda cirkadiánních signálů, čímž je snížena síla nutkání být ve dne vzhůru a v noci spát. Tím dochází k fragmentaci a menší kompaktnosti spánku. U starších lidí dochází k časnějšímu probouzení, čemuž odpovídají i změny v rytmu v tělesné teplotě a v tvorbě melatoninu (Dijk a spol., 1997).

6. ZÁVĚR

Snažila jsem se v této bakalářské práci alespoň částečně ukázat důležitost cirkadiánního systému v reálném světě. Hlubší poznání mechanismů a funkcí cirkadiánního systému by mohlo pomoci vyvinout lepší terapie při léčbě různých nemocí. Velmi výhodnou metodou se zdá být chronoterapie při léčbě nádorů. Tato metoda má přednost v tom, že při používání běžných léčiv zvedá jejich účinnost bez dalších vedlejších účinků. Jedná se pouze o správné načasování léčebné dávky tak, aby byl nádor postižen co nejvíce a zároveň okolní tkáň minimálně. Tato terapie se již začíná používat se slibnými výsledky. Pokud porozumíme příčině, proč jsou některé nemoci vázané na určitou denní dobu, je možné, že je časem budeme účinněji léčit a zlepšíme tak prognózy nemocných. To platí například i pro ranní výskyt infarktů a mrtvic. Při léčbě obezity by se daly využít vztahy mezi cirkadiánně regulovanými hormony a upravit jejich hladiny tak, aby obézní pacienti necítili nutkání jíst často, velké dávky a v nezvyklou dobu. V současné době se uvažuje o leptinu jako o možném léku. Léčba spánkových poruch, zejména DSPP je ve stádiu intenzivního zkoumání. Úspěšně se využívá ranního přirozeného, případně intenzivního umělého osvětlení, pravidelného denního režimu či léčby melatoninem a methylkobaltaminem. Zdá se však, že pro každého jednotlivce bude nutné experimentálně upravit individuální léčbu a ne všichni pacienti dosáhnou nutně trvalého zlepšení. Další výzkum cirkadiánního časového systému a jeho poruch přinese nepochybně nové zajímavé objevy a propojení tohoto systému nejen s hodinami buněčného dělení, ale i s endokrinním, neuroendokrinním, nervovým a metabolickým systémem a povede k novým možnostem léčby různých onemocnění.

Seznam literatury:

1. R.A. Akhar, A.B. Reddy, E.S. Maywood, J.D. Clayton, V.M. King, A.G. Smith, T.W. Gant, M.H. Hastings, C.P. Kyriacou (2002): Circadian cycling of the mouse liver transcriptome, as revealed by c DNA microarray, is driven by the the suprachiasmatic nucleus. *Curr. Biol.* 12: 540-550
2. D.E.Cummings, J.Q. Purnell, R.S. Frayo, K. Schmidova, B.E. Wisse, D.S. Weigle (2001): A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 50: 1714-1719
3. C.A. Czeisler, T.L. Shanahan, E.B. Klerman, H. Martens, D.J. Brotman, J.S. Emens, T. Klein, J.F Rizzo (1995): Suppression of melatonin secretion in some blind patients by exposure to bright light. *N Engl J Med.* 332: 6-11.
4. F. Damiola, N.L. Minh, N. Preitner, B. Kornmann, F.Fleury-Olela, U. Schibler (2000): Restricted feeding uncouples circadian oscillators in peripheral tissues from the central pacemaker in the suprachiasmatic nucleus.: *Genes and Dev.* 14: 2950-2961
5. A.C. Davidson, M.Straume, G.D. Block, M. Menaker (2006): Daily timed meals dissociate circadian rhythms in hepatoma and healthy host liver. *Int J Cancer.* 118:1623-1627
6. S. Davis, D.K. Mirick (2006): Circadian disruption, shift work and the risk of cancer: a summary of the evidence and studies in Seattle. *Cancer Causes Control* 17: 539-545
7. D.J. Dijk, C. Cajochen (1997): Melatonin and the circadian regulation of sleep initiation, consolidation, structure, and the sleep EEG. *Biol Rhythms* 12 :627-635
8. D.J. Dijk, J.F.Duffy, E. Riel, T.L. Shanahan, C.A. Czeisler (1999):Ageing and the circadian and homeostatic regulation of human sleep during forced desynchrony of rest, melatonin and temperature rhythms. *J.Physiol.* 516 :611-627
9. D.J. Dijk, S.W. Lockley (2002): Integration of human sleep-wake regulation and circadian rhythmicity. *J Appl Physiol* 92: 852-862
10. D.M. Edgar, W.C. Dement, C.A Fuller (1993): Effect of SCN lesions on sleep in squirrel monkeys: evidence for opponent processes in sleep-wake regulation. *Neuroscience* 13: 1065-1079.
11. E. Filipski, V.M. King, X.M. Li, T.G. Granda, M.-C. Mormont, B. Claustrat, M.H. Hastings, F. Lévi (2002): Host circadian clock as a control point in tumor progression. *Natl Cancer Inst.* 94 :690-697.
12. E. Filipski, V.M. King, X.M. Li, T.G. Granda, M.-C. Mormont, B. Claustrat, M.H. Hastings, F. Lévi (2003): Disruption of circadian coordination accelerates malignant growth in mice. *Pathologie Biologie* 51: 216-219
13. E. Filipski, X.M. Li, F.Lévi (2006): Disruption of circadian coordination and malignant growth. *Cancer Causes Control* 17: 509-514

14. R.G. Foster, M.W. Hankins (2002): Non-rod, non-cone photoreception in the vertebrates. *Prog Retin Eye Res.* 21: 507-527
15. L. Fu, C.C. Lee (2003): The circadian clock: pacemaker and tumour suppressor. *Nature* 3: 350-361
16. L.Fu, H. Pelicano, J. Liu, P. Huang, C. Lee (2002): The circadian gene *Period2* plays an important role in tumor suppression and DNA damage response in vivo. *Cell* 111: 41-50. Erratum in: *Cell* 111: 1055
17. J.E. Gangwisch, D.Malaspina, B. Boden-Albala, S.B.Heymsfield (2005): Inadequate sleep as a risk factor for obesity: analyses of the NHANES I. *Sleep* 28: 1289-1296
18. T. Hamilton (1969): Influence of environmental light and melatonin upon mammary tumour induction. *Br. J. Surg.* 56: 764-766
19. S. Hashimoto, M. Kohsaka, N. Morita, N. Fukuda, S. Honma, K. Honma (1996): Vitamin B12 enhances the phase-response of circadian melatonin rhythm to a single bright light exposure in humans. *Neurosci Lett.* 220: 129-132
20. M.H. Hastings, A.K. Reddy, E.S. Maywood (2003): A clockwork web: circadian timing in brain and periphery, in health and disease. *Nature reviews, Neuroscience* 4: 649-661
21. S.M. Hill, D.E. Blask (1988): Effects of the pineal hormone melatonin on the proliferation and morphological characteristics of human breast cancer cells (MCF-7) in culture. *Cancer Res.* 48: 6121-6126
22. M. Kato, K. Honma, T. Shigemitsu, Y. Shig (1993): Effects of exposure to a circularly polarized 50-Hz magnetic field on plasma and pineal melatonin levels in rats. *Bioelectromagnetics* 14: 97-106.
23. T.J. Kieffer, J.F. Habener (2000): The adipoinsular axis: effects of leptin on pancreatic β -cells. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 278: E1-E14
24. J. Liu, G. Mankani, X. Shi, M. Meyer, S. Cunningham-Runddles, X. Ma, Z.S. Sun (2006): The circadian clock *Period 2* gene regulates gamma interferon production of NK cells in host response to lipopolysaccharide-induced endotoxic shock. *Infection and immunity* 74: 4750-4756
25. E.S. Maywood, A.B. Reddy, G.K.Y. Wong, J.S. O'Neill, J.A.O'Brien, D.G. McMahon, A.J. Harmor, H. Okamura, M.H. Hastings (2006): Synchronization and maintenance of timekeeping in suprachiasmatic circadian clock cells by neuropeptidergic signaling. *Current Biology* 16: 599-605
26. J. Mendoza, C. Graff, H. Dardente, P. Pevet, E. Challet (2004): Feeding cues alter clock gene oscillations and photic responses in the suprachiasmatic nuclei of mice exposed to a light/dark cycle. *The Journal of Neuroscience* 25: 1514-1522

27. M. Mevissen, A. Lerchl , M. Szamel , W. Losche (1996): Exposure of DMBA-treated female rats in a 50-Hz, 50 microTesla magnetic field: effects on mammary tumor growth, melatonin levels, and T lymphocyte activation. *Carcinogenesis* 17: 903-910
28. M. Mevissen, A. Lerchl, W. Loscher (1996): Study on pineal function and DMBA-induced breast cancer formation in rats during exposure to a 100-mG, 50 Hz magnetic field. *Toxicol Environ Health* 48: 169-185
29. M. Okawa, M. Uchiyama, S. Ozaki, K. Shibui, H. Ichikawa (1998): Circadian rhythm sleep disorders in adolescents: Clinical trials of combined treatments based on chronobiology. *Psychiatry and Clinical Neurosciences* 52: 483-490
30. J.P. O'Reardon, B.L. Ringel, D.F. Dinges, K.C. Allison, N.L. Rogers, N.S. Martino, A.J. Stunkard (2004): Circadian Eating and Sleeping Patterns in the Night Eating Syndrome. *Obesity Research* 12: 1789-1796
31. E.E. Otukonyong, M.G. Dube, R.Torto, P.S. Kalra, S.P. Kalra (2005): High-fat diet-induced ultradian leptin and insulin hypersecretion are absent in obesity-resistant rats. *Obesity research* 13: 991-999
32. K. H. Paik, D.-K. Jin, S. Y. Song, J. E. Lee, S.H. Ko, S.M. Song, J.S. Kim, Y.J. Oh, S.W.Kim, S.H. Lee, S.H. Kim, E.K. Kwon, Y.H. Choe (2004): Correlation between fasting plasma ghrelin levels and age, body mass index (BMI) , BMI percentiles, and 24-hour plasma ghrelin profiles in Prader-Willi syndrome, *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 89: 3885-3889
33. S. Panda, I. Provencio, D. C. Tu, S.S. Pires, M.D. Rollag, A.M. Castrucci, M.T. Pletcher, T.K. Sato, T. Wiltshire, M. Andahazy, S.A. Kay, R.N. Van Gelder, J.B. Hogenesch (2003): Melanopsin is required for non-image-forming photic responses in blind mice. *Science* 301: 525-527
34. N. Preitner, F. Damiola , L. Lopez-Molina , J. Zakany , D. Duboule , U. Albrecht, U. Schibler (2002): The orphan nuclear receptor REV-ERB α controls circadian transcription within the positive limb of the mammalian circadian oscillator. *Cell* 110:251-60
35. M.R. Ralph, M.N. Lehman (1991): Transplantation: a new tool in the analysis of the mammalian hypothalamic circadian pacemaker. *Trends Neurosci.* 14 :362-366
36. T. Ravindra, N.K. Lakshmi, Y.R. Ahuja (2006): Melatonin in pathogenesis and therapy of cancer. *Indian J Med Sci* 60: 523-535
37. Q.R. Regestein, M. Pavlova (1995): Treatment of delayed sleep phase syndrome. *General Hospital Psychiatry* 17: 335-345
38. S.M. Reppert, D.R. Weaver (2001): Molecular analysis of mammalian circadian rhythms. *Annu. Rev. Physiol.* 63: 647-676

39. J.A. Ripperger, L.P. Shearman, S.M. Reppert, U. Schibler (2000): CLOCK, an essential pacemaker component, controls expression of the circadian transcription factor DBP. *Genes Dev.* 14: 679-689.
40. R.D. Rudic, P. McNamara, A.M. Curtis, R.C. Boston, S. Panda, J.B. Hogenesch, G.A. Fitzgerald (2004): BMAL1 and CLOCK, two essential components of the circadian clock, are involved in glucose homeostasis. *PLoS Biol* 2: 1893-1899
41. P.N. Shah, M.C. Mhatre, L.S. Kothari (1984): Effect of melatonin on mammary carcinogenesis in intact and pinealectomized rats in varying photoperiods. *Cancer Res.* 44: 3403-3407
42. S.A. Shea, M.F. Hilton, C. Orlova, R.T. Ayers, C.S. Mantzoros (2005): Independent Circadian and Sleep/Wake Regulation of Adipokines and Glucose in Humans. *The Journal of Endocrinology and Metabolism* 90: 2537-2544
43. B. Sherman, C. Wysham, B. Pfohl (1985): Age-related changes in the circadian rhythm of plasma cortisol in man. *Clin Endocrinol Metab.* 61: 439-443
44. M. Shintani, Y. Ogawa, K. Ebihara, M. Aizawa-Abe, F. Miyanaga, K. Takaya, T. Hayashi, G. Inoue, K. Hosoda, M. Kojima, K. Kangawa, K. Nakao (2001): Ghrelin, an endogenous growth hormone secretagogue, is a novel orexigenic peptide that antagonizes leptin action through the activation of hypothalamic neuropeptide Y/Y1 receptor pathway. *Diabetes* 50: 227-232
45. E.S. Schernhammer, F. Laden, F.E. Speizer, W.C. Willett, D.J. Hunter, I. Kawachi, G.A. Colditz (2001): Rotating night shifts and risk of breast cancer in women participating in the nurses' health study. *Natl Cancer Inst.* 93: 1563-1568
46. R. Silver, W.J. Schwartz (2003): The Suprachiasmatic Nucleus is a Functionally Heterogeneous Timekeeping Organ. *Methods Enzymol* 393: 451-465
47. S. Taheri (2004): The genetics of sleep disorders. *Minerva Med.* 95: 203-212
48. M.J. Thorpy, E. Korman, A.J. Spielman, P.B. Glovinsky (1988): Delayed sleep phase syndrome in adolescents. *Adolesc Health Care* 9: 22-27
49. K.L. Toh, C.R. Jones, Y. He, E.J. Eide, W.A. Hinz, D.M. Virshup, L.J. Ptacek, Y.H. Fu (2001): An hPer2 phosphorylation site mutation in familial advanced sleep phase syndrome. *Science* 291: 1040-1043
50. F.W. Turek, C. Dugovic, P.C. Zee (2001): Current Understanding of the circadian clock and the clinical implications for neurological disorders. *Arch Neurol.* 58: 1781-1787
51. Turek F.W., Joshu C., Kohsaka A., Lin E., Ivanova G., McDearmon E., Laposky A., Losee-Olson S., Easton A., Jensen D.R., Eckel R.H., Takahashi J.S., Baas J. (2005): Obesity and metabolic syndrome in circadian clock mutant mice. *Science* 308: 1043-1045

52. D.K. Welsh, D.E. Logothetis, M. Meister, S.M. Reppert (1995): Individual neurons dissociate from rat suprachiasmatic nucleus express independently phased circadian firing rhythms. *Neuron* 14: 697-706
53. S.H. Yoo, S. Yamazaki, P.L. Lowrey, K. Shimomura, C.H. Ko, E.D. Buhr, S.M. Siepk, H.K. Hong, W.J. Oh, O.J. Yoo, M. Menaker, J.S. Takahashi (2004): PERIOD2::LUCIFERASE real-time reporting of circadian dynamics reveals persistent circadian oscillations in mouse peripheral tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 5339-5346
54. S. Zvonic, A. A. Ptitsyn, S. A. Conrad, L. K. Scott, Z. E. Floyd, G. Kilroy, X. Wu, B. C. Goh, R. L. Mynatt, J. M. Gimble (2006): Charakterization of Peripheral Circadian Clocks in Adipose Tissues. *Diabetes* 55: 962-970