

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



**Lucie Petrželková**

Důsledky desynchronizace cirkadiálního systému stálým světlem  
Consequences of desynchronization of the circadian system by constant light

Bakalářská práce

Školitelka: doc. RNDr. Zdeňka Bendová, Ph.D.

Praha, 2019

**Poděkování:**

Tímto bych ráda poděkovala své školitelce doc. RNDr. Zdeňce Bendové, Ph.D., za vedení, odborné rady, ochotu a vstřícnost při zpracování bakalářské práce.

**Prohlášení:**

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

V Praze, 28. 4. 2019

Lucie Petrželková

## **Abstrakt**

Cirkadiánní hodiny existují v každém organismu a jejich perioda je přibližně 24 hodin. Tato cirkadiánní perioda je udržována i v naprosto neperiodickém prostředí, musí být však přizpůsobena přesnému 24hodinovému solárnímu cyklu pomocí synchronizátoru, tzv. *zeitgeberu*. Hlavní řídicí orgán cirkadiánního rytmu jsou suprachiasmatická jádra (SCN) ve ventrálním hypotalamu. Dále existují periferní hodiny, které se nacházejí například v játrech nebo plicích. Tyto periferní hodiny pracují autonomně, ale SCN je synchronizují s vlastní periodou a fází. Nejdůležitějším *zeitgeberem* je střídání světla a tmy. Tato bakalářská práce popisuje důsledky podmínek, kdy nedochází k pravidelnému střídání světla a tmy a je místo toho nastoleno konstantní světlo. Konstantní světlo může narušit cirkadiánní rytmus, takzvaně desynchronizovat cirkadiánní hodiny. Práce se zaměřuje na princip desynchronizace stálým světlem a stručně shrnuje vědecké poznatky o vybraných patologiích vzniklých touto desynchronizací cirkadiánního systému. Mezi vybrané patologie patří nádor vaječníku a rakovina prsu, obezita a inzulinová rezistence, předčasné stárnutí a schizofrenie.

## **Klíčová slova**

stálé světlo, cirkadiánní systém, suprachiasmatické jádro

## **Abstract**

The circadian clock exists in every organism and their period is approximately 24 hours. This circadian rhythm is maintained even in a completely non-periodic environment but must be adapted to a precise 24-hour solar cycle using a synchronizer, called *zeitgeber*. The main controlling organ of the circadian rhythm are the suprachiasmatic nuclei (SCN) in the ventral hypothalamus. There are also peripheral clocks, for example in the liver or lungs. These peripheral clocks operate autonomously but the SCNs synchronize them with their own period and phase. The most important *zeitgeber* is the light and dark alternation. This bachelor thesis describes the consequences of conditions where there is no regular light and dark alternation and constant light conditions are established instead. Constant light can disturb the circadian rhythm and desynchronize the circadian clocks. This bachelor thesis summarizes the scientific knowledge of desynchronization by the effect of constant light and briefly describes the selected pathologies resulting from the desynchronization of the circadian system. Selected pathologies include ovarian tumour and breast cancer, obesity and insulin resistance, immunosenescence and schizophrenia.

## **Key words**

constant light, circadian system, suprachiasmatic nucleus

## Seznam zkratek

AANAT	Akrylamin-N-acetyltransferáza
ANS	Autonomní nervový systém
AVP	Arginin vazopresin
BMAL1	Brain and muscle arnt-like protein 1
CALR	Calretin
cAMP	Cyklický adenosin 3', 5' monofosfát
CCG	Hodinami řízený geny ( <i>clock controlled genes</i> )
cGMP	Cyklický guanylát monofosfát
CKI $\delta$ a CKI $\epsilon$	Kaseinová kináza $\delta$ , $\epsilon$
CLOCK	Circadian locomotor output cycles kaput
CREB	cAMP response element-binding protein
CRY	Cryptochrome
DMBA	Dimethylbenzathracenem
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
E-box	Enhancer box
G6PC	Glucose 6-phosphatase
GABA	Kyselina $\gamma$ -aminomáselná
GC	Guanylát cykláza
GHT	Genikulohypotalamický trakt
Glut1, 2	Glukózový transportér 1, 2
GMP	Guanylát monofosfát
GRP	Gastrin-uvolňující peptid ( <i>gastrin-releasing peptide</i> )
IGL	Intergenikulátní listek talamu ( <i>intergeniculate leaflet</i> )
IML	Intermediální sloupec míchy
ipRGC	Fotosenzitivní retinální gangliová buňka ( <i>intrinsically photosensitive tinal ganglion cell</i> )
LD	Cyklus světlo-tma ( <i>light dark</i> )
LL	Cyklus světlo-světlo ( <i>light light</i> )
mENK	Methionin enkephalin
MT1,2	Melatoninový receptor 1,2
NA	Noradrenalin
NF $\kappa$ b	Nuclear factor $\kappa$ B
NMDA	N-methyl-D-asparagová kyselina
NOS	NO syntáza
NPY	Neuropeptid Y

Nrf-2	Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2
MT1, 2, 3	Melatoninový receptor 1, 2, 3
PACAP	Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide
PARK7	Parkinson disease protein 7
PEPck	Phosphoenolpyruvate carboxykinase
PER	Cirkadiánní protein period ( <i>periode circadian protein</i> )
PKA	Proteinkináza A
PKG	Dependentní protein kináza
PRC	Fázově responzní křivka ( <i>phase response curve</i> )
PVN	Praventriculární jádro hypotalamu
REV-ERB $\alpha/\beta$	Reverse strand of ERBA $\alpha/\beta$
RHT	Retinohypothalamický trakt
ROR $\alpha/\beta/\gamma$	Retinoid-related orphan receptors $\alpha/\beta/\gamma$
SCG	Superirní cervikální ganglia sympatiku
SCN (VL a DM)	Suprachiasmatická jádra ( <i>suprachiasmatic nucleus</i> ; ventrolaterální a dorzomediální)
Sdy	Sandy
TNF $\alpha$	Zánětlivý cytokin $\alpha$ ( <i>tumor necrosis factor <math>\alpha</math></i> )
VIP	Vasoaktivní intestinální polypeptid ( <i>vasoactive intestinal polypeptide</i> )

# Obsah

<b>1. Úvod.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Cirkadiánní systém .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 Molekulární podstata cirkadiánních oscilací .....</b>	<b>3</b>
2.1.1 Primární zpětnovazebná smyčka.....	4
2.1.2 Sekundární zpětnovazebná smyčka .....	4
<b>2.2 Hlavní cirkadiánní hodiny .....</b>	<b>5</b>
2.2.1 Mezibuněčná synchronizace SCN neuronů.....	6
<b>3. Synchronizace cirkadiánního systému .....</b>	<b>8</b>
<b>3.1 Parametrický a neparametrický model synchronizace .....</b>	<b>8</b>
<b>3.2 Fázově-responzní křivka .....</b>	<b>9</b>
<b>3.3 Synchronizace periferních orgánů světlem .....</b>	<b>10</b>
3.3.1 Melatonin.....	11
3.3.1.1 Syntéza melatoninu .....	12
<b>3.4 Molekulární podstata světelné synchronizace .....</b>	<b>12</b>
<b>4. Působení stálého světla na cirkadiánní systém .....</b>	<b>14</b>
<b>5. Patologie způsobené desynchronizací cirkadiánního systému stálým světlem.....</b>	<b>15</b>
<b>5.1 Nádory.....</b>	<b>15</b>
5.1.1 Nádor vaječníků.....	16
5.1.2 Rakovina prsu .....	17
<b>5.2 Obezita a inzulínová rezistence .....</b>	<b>18</b>
<b>5.3 Předčasné stárnutí.....</b>	<b>19</b>
<b>5.4 Schizofrenie .....</b>	<b>20</b>
<b>6. Závěr.....</b>	<b>22</b>
<b>7. Seznam literatury .....</b>	<b>24</b>

# 1. Úvod

Země pravidelně rotuje kolem své osy a díky tomu způsobuje v přírodním prostředí předvídatelné změny teploty a světla. V průběhu evoluce se proto vyvinuly cirkadiánní hodiny, což je mechanismus pro sledování času a seřizování fyziologických a behaviorálních funkcí s přibližně 24hodinovou (cirkadiánní) periodou. Tyto hodiny umožňují předvídat každodenní změny v životním prostředí a pomáhají organismům přizpůsobit jejich chování těmto změnám. Hodiny tak přinášejí výhodu přežití.

Cirkadiánní hodiny se v průběhu evoluce vyvinuly již u jednobuněčných organismů a pro svou výhodnost se dochovaly ve většině forem života až do současnosti. U některých organismů však pozorujeme absenci těchto hodin. V tomto případě se jedná o výsledek „regresivní evoluce“. Objevuje se to u druhů, které žijí v necyklickém prostředí a předvídaní denní doby pro ně není nezbytné.

Hlavní cirkadiánní hodiny savců se nachází v suprachiasmatických jádrech (SCN) hypotalamu. Periferní hodiny se pak nacházejí v různých tkáních (např. v plicích, játrech apod.) a jsou schopné pracovat do určité míry samostatně, bez signálů ze SCN. SCN jsou však důležitá pro vzájemnou synchronizaci periferních oscilátorů a zajišťují tak časovou koordinaci všech fyziologických procesů.

Pro správné fungování cirkadiánních hodin je nutné jejich seřizování vnějšími vlivy. Bez vnějších signálů jsou totiž hodiny schopny vytvářet signál s periodou, která se pouze blíží 24hodinovému cyklu. Signály, které hodiny seřizují, se nazývají *zeitgebery*. Mezi *zeitgebery* patří například sociální interakce nebo časovaný příjem potravy. Nejdůležitějším *zeitgeberem* je však střídání světla a tmy během dne a noci. Vysoký kontrast mezi světlem ve dne a dostatečnou tmou v noci zajišťuje, že cirkadiánní hodiny budou pracovat v souladu se solárním cyklem a poskytovat přesné informace o čase periferním orgánům.

V dnešní době je však díky stálému osvětlení tento signál slabý a rušivé světlo v noci (například u práce na směny) hodiny spíše desynchronizuje. Světlo již často nepůsobí na hodiny jako seřizovací signál, a vlivem stálého světla organismy přicházejí o „noc“. Z narušení této synchronizace pak vyplývá nemálo patologií. V této práci se budu věnovat patologii nádorů, obezity a inzulínové deficiencie, předčasnému stárnutí a schizofrenii.

## **Cíle práce**

Cílem této práce je shrnout současné vědecké poznatky o desynchronizaci cirkadiálního systému působením stálého světla. Dalším cílem je stručně popsat patologické změny v organismu vzniklé právě desynchronizací cirkadiálního systému stálým světlem.



## 2. Cirkadiánní systém

Endogenní cirkadiánní oscilace jsou podmíněny molekulárními mechanismy, které jsou postaveny na zpětnovazebných interakcích tzv. hodinových genů. Tyto mechanismy najdeme skoro ve všech buňkách organismu a spolu se změnami v membránovém potenciálu zajišťují pravidelné cirkadiánní, tedy zhruba 24hodinové, oscilace fyziologických procesů (Ralph *et al.*, 1990). Takzvané periferní hodiny se mohou nacházet například i v játrech, kostní dřeni nebo plicích a jsou do značné míry závislé na synchronizačních stimulech z SCN (Kowalska and Brown, 2007).

Aby systém správně fungoval a dokázal předvídat přesné změny ve vnějším prostředí, je nezbytné ho synchronizovat s vnějšími podmínkami. Hlavní a tedy nejefektivnější stimul, který umožňuje tuto synchronizaci, je světlo (Nishino *et al.*, 1976). Pravidelná denní rutina nebo třeba sociální interakce jsou příklady dalších synchronizátorů, které mohou přispívat k synchronizaci cirkadiánních hodin zejména u člověka (Aschoff *et al.*, 1971).

Za přenos světelného signálu z prostředí do SCN je zodpovědný retinohypotalamický trakt (RHT; David-Gray *et al.*, 1998), odbočka zrakové dráhy tvořená axony vnitřně fotosenzitivních gangliových buněk (ipRGCs, z anglického „*intrinsically photosensitive retinal ganglion cell*“; Berson *et al.*, 2002).

### 2.1 Molekulární podstata cirkadiánních oscilací

Mezi výrazné osobnosti, které přispěly k odhalení podstaty generování cirkadiánních oscilací, patří Jeffrey Hall, Michael Rosbash a Michale Young, kteří za své objevy získali Nobelovu cenu za medicínu a fyziologii v roce 2017. První hodinový gen byl však objeven u *Drosophily melanogaster* již v sedmdesátých letech. Jednalo se o gen *Period* (*Per*; Konopka and Benzer, 1971), a další výzkumy prokázaly přítomnost hodinových genů i u vyšších organismů.

První hodinový gen u savců byl objeven na základě mutantního křečka. Křeček s mutací v genu *Clock* vykazovala změny v délce periody cirkadiánních rytmů a pohybové aktivity (Ralph and Menaker, 1988). Přesná funkce *Clock* genu byla vysvětlena až na přelomu tisíciletí (Gekakis *et al.*, 1998).

Hlavní podstatou molekulárního mechanismu jsou vzájemné interakce pozitivní a negativní zpětnovazebné transkripčně-translační smyčky, řídící rytmickou expresi hodinových genů. Hlavní funkce smyček je řídit expresi hodinových genů. Tato hlavní podstata zůstává stejně u všech živočichů (obr. 1).

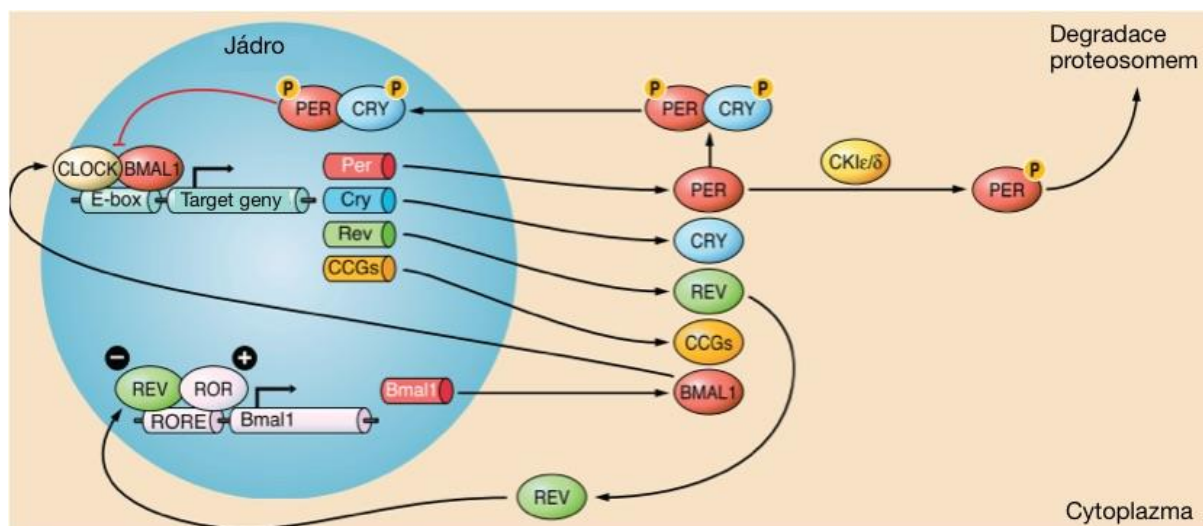
### 2.1.1 Primární zpětnovazebná smyčka

Základní zpětnovazebná smyčka se skládá ze 4 základních proteinů: jako aktivátory zde slouží CLOCK a BMAL1, funkci represorů zde zastává PER a CRY (Hardin *et al.*, 1990). V jádru probíhá transkripce hodinových genů *Clock* a *Bmal1*. V cytoplazmě vzniklé proteiny heterodimerizují na CLOCK/BMAL1. Při návratu do jádra se tento heterodimer stává transkripčně aktivním komplexem a váže se na sekvenci E-box (z anglického „*enhancer box*“) v promotorových oblastech cílových genů. Tím spustí expresi genů *Period* (*Per1,2,3*) a genů *Cryptochrome* (*Cry1,2*; Gekakis *et al.*, 1998). V cytoplazmě dochází k translaci proteinů PER a CRY (Van Der Horst *et al.*, 1999). Do jádra potom už vstupuje dimer, který spolu tvoří proteiny PER a CRY. Tento dimer blokuje transkripčně aktivační komplex CLOCK/BMAL1 a brání tak další expresi genů *Per* a *Cry* (Ye *et al.*, 2014). Proteiny PER a CRY tedy potlačují svoji vlastní transkripci. Proteiny PER a CRY jsou zároveň v cytoplazmě odbourány ubiquitinovou cestou (Busino *et al.*, 2007). Cyklus začne nanovo v okamžiku, kdy je komplex PER a CRY degradovaný a blokáda dimeru CLOCK/BMAL1 se uvolní (Kume *et al.*, 1999). Tento cyklus trvá přibližně 24 hodin.

Kaseinové kinázy (CKI $\delta$  a CKI $\epsilon$ ) a fosfatázy celý tento mechanismus regulují fosforylací a defosforylací proteinů hodinových genů a určují tak rychlost jejich degradace či vstup do jádra. Kinázy tímto způsobem tedy také hrají roli v udržování periody vnitřních hodin (Takano *et al.*, 2000).

### 2.1.2 Sekundární zpětnovazebná smyčka

Přidatná, sekundární smyčka reguluje expresi hodinového genu *Bmal1* a řídí tím jeho dostupnost pro tvorbu základního pozitivního regulátoru CLOCK/BMAL1. U savců mají významnou úlohu při transkripci časového genu *Bmal1* dva jaderné receptory. Tyto receptory se nazývají REV-ERB $\alpha$  a ROR $\alpha$  (Harding and Lazar, 1993). Podobně jako v primární smyčce, komplex CLOCK/BMAL1 pozitivně reguluje expresi genů *Rev-erb $\alpha$* /*Rev-erb $\beta$*  a *Rora*. Nyní už je prokázáno, že všichni členové REV-ERB rodiny (REV-ERB $\alpha$ /REV-ERB $\beta$ ) potlačují a ROR rodiny (ROR $\alpha$ / $\beta$ / $\gamma$ ) aktivují transkripci *Bmal1* (Guillaumond *et al.*, 2005).



**Obrázek 1.** Molekulární cirkadiánní hodiny. Genovou podstatu generování cirkadiánních oscilací tvoří pozitivní a negativní zpětnovazebné smyčky. Primární smyčka je tvořena dvěma základními aktivátory – proteiny CLOCK a BMAL1, a dvěma základními represory PER a CRY. V sekundární smyčce působí jako aktivátor genu BMAL1 ROR $\alpha/\beta/\chi$ . Proteiny REV-ERB $\alpha,\beta$  zde naopak tlumí transkripci BMAL1. Proteiny PER a CRY jsou fosforylované CKI $\epsilon/\delta$  a degradované v proteozomu. PŘEVZATO z (Golombek and Rosenstein, 2010) UPRAVENO.

Hodinové geny mohou působit i jako transkripční faktory pro expresi tzv. hodinami řízených genů (CCGs, z anglického „clock controlled genes“). CCGs se liší oproti hodinovým genům tím, že jejich proteiny nejsou součástí zpětnovazebných smyček a tím pádem nejsou nezbytné pro fungování cirkadiánních hodin. CCGs prvního řádu jsou takové geny, které jsou regulovány stejně jako hodinové geny heterodimerem CLOCK/BMAL1 (Reppert and Weaver, 2001). Tyto geny prvního řádu pak mohou dále rytmicky působit na promotory různých genů kódujících funkční proteiny. Toto je způsob předání a přenášení rytmického signálu na řízení různých fyziologických funkcí. Za pozorovatelné výstupní rytmy jsou zodpovědné právě CCGs. Mezi nejvýznamnější CCGs patří arginin vasopresin (AVP) působící jako neurotransmitter, dále c-Myc a p53 účastníci se kontroly řízení buněčného dělení. Centrální hodiny řídí autonomní nervový systém a neuroendokrinní systém. Tyto systémy dále seřizují periferní hodiny.

## 2.2 Hlavní cirkadiánní hodiny

V roce 1972 dva týmy nezávisle na sobě prokázaly, že SCN je hlavní sídlo cirkadiánních hodin savců. Šlo o tým Roberta Y. Moora a tým Irvinga Zuckera (Moore and Eichler, 1972; Zucker and Friedrich, 1972).

Savčí SCN jsou shluky neuronů tvořící vysoce propojenou nervovou tkáň, která se nachází těsně nad optickým chiasmatem. Jedná se o párové struktury ležící po stranách třetí

mozkové komory (Abrahamson and Moore, 2001). SCN se dělí na dvě specifické oblasti. Jde o oblast ventrolaterální (VL-SCN), takzvané jádro, a oblast dorsomediální (DM-SCN) neboli obal. VL-SCN se nachází nad optickým chiasmatem a přijímá většinu signálů ze sítnice a z mozku. Oproti tomu DM-SCN přijímá signály z hypotalamu, limbické oblasti a z oblasti VL-SCN, kterou obklopuje (Moore, 1996). Obě části jsou vzájemně synchronizovány pomocí neurotransmiteru vasoaktivního intestinálního peptidu (VIP). VIP je tvořen ve VL-SCN a synchronizuje neurony v DM-SCN. Je to nepostradatelný neuropeptid pro synchronizaci neuronů v SCN (DeBruyne *et al.*, 2006), viz kapitola 2.2.1.

Z hlediska neurochemické charakteristiky jsou jádra SCN heterogenní, stejně jako jejich aferentní a eferentní dráhy. Ve VL-SCN se nachází neurony, které syntetizují VIP a gastrin-uvolňující peptid (GRP). Jsou zde neurony, které v odpověď na světlo exprimují hodinové geny *Per1* a *Per2*. Mezi vstupní dráhy patří RHT, který předává informace ze sítnice do SCN. Další vstupní dráha vede nepřímou přes intergenikulární lístek thalamu (IGL) a tvoří tzv. genikulohypotalamický trakt (GHT). V IGL se integrují světelné a hlavně nesevětelné informace, které ovlivňují SCN. Hlavní signální molekulou v GHT je neuropeptid Y (NPY; Card and Moore, 1989).

Celkově třetí vstupní dráha, vede také nepřímou. Začíná ve středním mozku v rapheálních jádrech a opět je to dráha určená spíše pro nesevětelné informace. Serotonin je zde hlavní molekulou předávající informace (Sumova *et al.*, 1996).

VL-SCN je obklopeno DM-SCN, které obsahuje AVP a calretin (CALR) a také neurotransmitery methionin enkephalin (mENK), kyselinu  $\gamma$ -aminomáselnou (GABA). GABA je nejdůležitější neurotransmitter, je exprimován ve všech buňkách SCN (van den Pol and Dudek, 1993). Hodinové geny jsou tady exprimovány rytmicky a DM-SCN tak působí jako silnější autonomní oscilátor (Antle and Silver, 2005), který dostává synchronizační informace zejména z VL-SCN a také z několika dalších hypotalamických oblastí (Golombek and Rosenstein, 2010).

### 2.2.1 Mezibuněčná synchronizace SCN neuronů

V synchronizaci SCN neuronů hrají podstatnou roli neurotransmitery – například GABA. Aktivace GABA receptorů způsobuje u dospělých SCN inhibiční odpověď. To hraje roli v synchronizaci neurálních sítí v mozku (Shirakawa *et al.*, 2000). GABAergní přenos může být ale i excitační a to například v DM-SCN (Choi *et al.*, 2008). Právě tato excitace může hrát roli v komunikaci mezi VL-SCN a DM-SCN (Albus *et al.*, 2005). Inhibiční/excitační poměr

GABAergní aktivity hraje roli ve fázové synchronizaci jednotlivých neuronů, což vyplývá například z faktu, že GABAergní excitační přenos je převládající u desynchronizovaných SCN než u synchronizovaných SCN (Farajnia *et al.*, 2014).

Další důležitý neurotransmitter je VIP. To je primární neurotransmitter ve VL-SCN. Neurony obsahující VIP mají za úkol zpracovat informace o světle získané z RHT a následně převést tyto informace do DM-SCN (Abrahamson and Moore, 2001). Eliminace VIP nebo VIP receptorů snižuje elektrickou aktivitu SCN (Brown *et al.*, 2006), molekulární rytmy (Maywood *et al.*, 2006) a i behaviorální rytmy (Aton *et al.*, 2005). Neurotransmitter VIP je tedy důležitý pro synchronizaci SCN neuronů.

Neurony v DM-SCN exprimují GRP. Tyto neurony jsou důležité pro přenos informací týkající se vnějšího světla skrze celé SCN (Gamble *et al.*, 2007). Většina neuronů v DM-SCN exprimuje AVP. Tato exprese je rytmická a je řízena zpětnovazebnou smyčkou. Aplikace AVP na neurony SCN *in vitro* obnovuje rytmus a synchronizuje neurony (Maywood *et al.*, 2011).

SCN neurální síť obsahuje hodně gap junction, což je typ mezibuněčného spojení. Právě toto spojení zprostředkovává elektrickou synchronizaci mezi SCN neurony (Colwell, 2000). Spojení zprostředkované gap junction zlepšuje konektivitu neurálních sítí (Pfeuty *et al.*, 2003) a hraje roli v synchronizaci několika oblastí mozku (Long *et al.*, 2005). Klíčový komponent v gap junction v savcích SCN je protein konexin-36. U myší, kde byl tento protein nefunkční, došlo k výraznému snížení elektrického spojení v SCN (Long *et al.*, 2005).

Pro modulaci synchronních rytmů je důležitá rovnováha mezi chemickou a elektrickou komunikací v SCN. Narušení pouze jedné formy komunikace může narušit rytmicitu cirkadiálních rytmů v SCN i v periferiích.

### 3. Synchronizace cirkadiálního systému

Mezi průkopnické práce v oblasti synchronizace cirkadiálních rytmů patří práce Jürgena Aschoffa a především Colina Pittendrigha. Oba formulovali základní principy cirkadiální synchronizace. Pittendrigh navíc přišel s myšlenkou světlocitlivého oscilátoru, který zajišťuje synchronizaci behaviorálních a fyziologických dějů v organismu (Pittendrigh, 1960). Pozdější výzkumy identifikovaly tuto strukturu v párové struktuře v hypotalamu, v SCN nad křížením očních nervů (Moore and Eichler, 1972).

Hlavní a periferní hodiny tvoří síť, která udává synchronizovaný čas pro celý organismus. Každý oscilátor v této síti je schopen odměřovat 24hodinový cyklus samostatně, ale pro synchronizaci periferních oscilátorů s denní dobou či pro synchronizaci oscilátorů navzájem je nutný signál z SCN (Yamazaki *et al.*, 2000). Základní mechanismus, který odměřuje 24hodinový rytmus, je na molekulární úrovni shodný ve všech tkáních (Balsalobre *et al.*, 2000), propojení s SCN zaručuje jeho synchronizaci s vnějším časem.

Základním synchronizátorem cirkadiálních rytmů je fotoperioda. Fotoperioda se mění v závislosti na zeměpisné šířce a také v závislosti na ročním období. Tato změna poměru mezi dnem a nocí se odráží do délky subjektivního dne a noci generovaných cirkadiálním systémem. Organismy teda zaznamenávají jak délku fotoperiody, tak i to, jestli se fotoperioda prodlužuje či zkracuje. Prodlužování a zkracování fotoperiody je ukazatel ročního období a vede to na příklad ke změnám sexuální aktivity (Follett and Milette, 1982).

#### 3.1 Parametrický a neparametrický model synchronizace

Synchronizace s vnějším časem daným rotací Země kolem své osy je nezbytná pro správné fungování cirkadiálního systému. Kdyby neprobíhala synchronizace světlem, vnitřní hodiny by běžely podle svého molekulárního mechanismu, tzn. volným během, který umožňuje pouze zhruba, nikoliv přesně, 24hodinovou periodu. Časem by byly fázové rozdíly tak veliké, že by to nebylo slučitelné se životem. Kdyby se například vnitřní hodiny zpožďovaly každý den jen o 6 minut, za tři měsíce by se denní zvířata stala nočními a naopak (Golombek and Rosenstein, 2010).

V minulosti byly navrženy dva modely mechanismu, jakým probíhá synchronizace cirkadiálních hodin *zeitgeberem*. Modely se nazývají parametrický a neparametrický. V dnešní době víme, že synchronizace cirkadiálních pacemakerů je kombinací obou modelů.

Parametrický model navržený v sedmdesátých letech prof. Aschoffem je založen na předpokladu, že perioda vnitřního cyklu je nastavená shodně s externím cyklem, a že změny

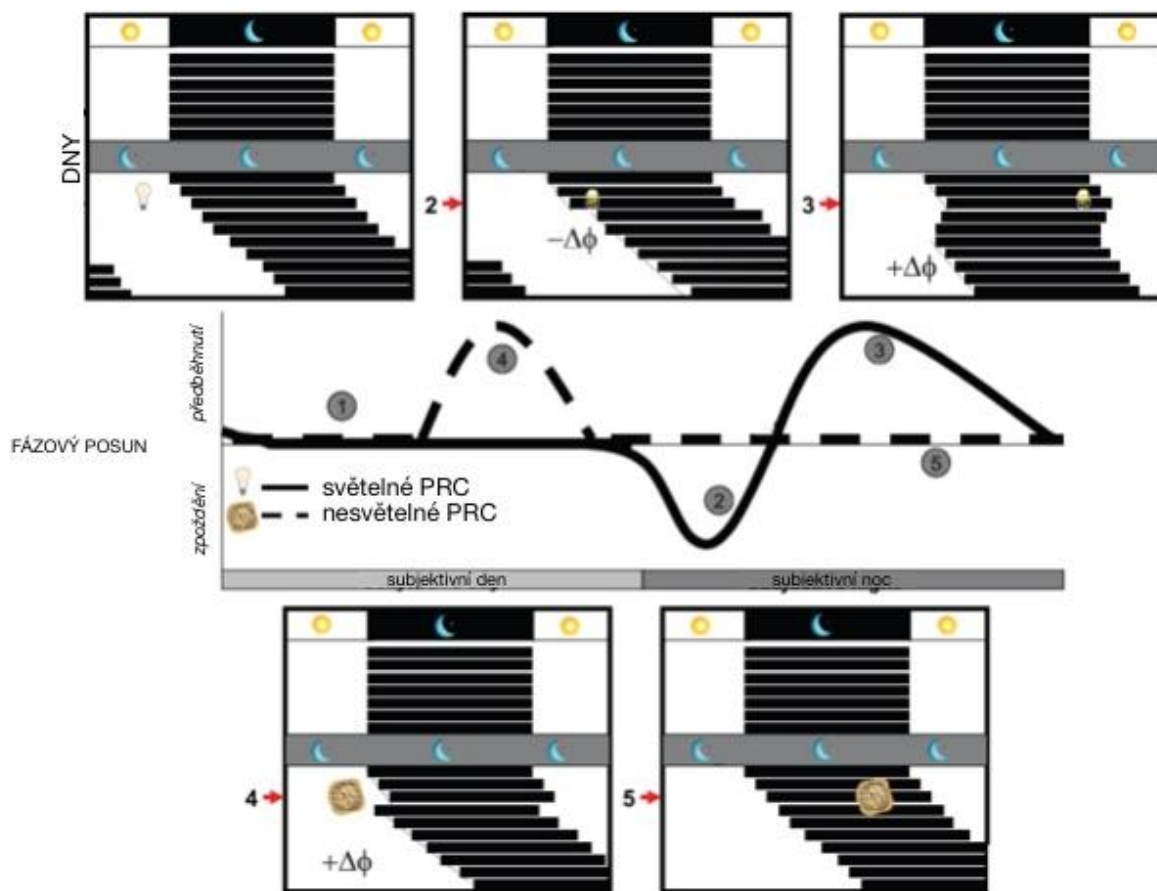
v periodě se dějí okamžitě v důsledku změn světelných podmínek. Předpokládá, že světlo zkracuje nebo prodlužuje periodu endogenní oscilace a zároveň modifikuje její vlnovou délku a mezer. Naproti tomu nelineární model je založen na jednotlivých fázových posunech vyvolaných velmi krátkými světelnými pulzy. Tento model navržený prof. Pittendrighem předpokládá, že perioda volného běhu cirkadiálního systému je takto korelována každý den (Pittendrigh, 1981). Fáze pro synchronizaci může být vypočtena z tzv. fázově-responzní křivky (PRC, z anglického „*phase response curve*“).

### 3.2 Fázově-responzní křivka

Ačkoliv v přirozených podmínkách se hodiny synchronizují obvykle celou fotoperiodou, laboratorní testy ukázaly, že ke kompletní synchronizaci vnitřních hodin stačí pouze jeden světelný impulz denně, pokud je aplikován v období, kdy jsou hodiny citlivé na světlo (Pittendrigh and Daan, 1976). Organismy s vnitřní periodou kratší než 24 hodin potřebují světelný pulz zvečera, naopak organismy s vnitřní periodou delší než 24 hodin potřebují světelný pulz zrána. Když je například vnitřní perioda 23 hodin, k úpravě její délky k solárnímu dni je zapotřebí, aby světlo zasáhlo oscilátor v časně subjektivní noci. Když je naopak vnitřní perioda 25 hodin, oscilátor pak musí zaznamenat fázové předběhnutí, což je dosaženo světelným pulzem během pozdní subjektivní noci. Tuto změnu citlivosti endogenního oscilátoru ke stejnému světelnému impulzu aplikovanému v různou denní dobu vyjadřuje PRC (Pittendrigh and Daan, 1976).

Tato křivka je grafické vyjádření velikosti a směru fázových posunů cirkadiálního rytmu, v závislosti na době působení *zeitgeberu* (obr. 2). Vymezuje časové intervaly, ve kterých světlo může způsobit fázové předběhnutí či zpoždění a může sloužit jako nástroj odhadu velikosti předpokládaného posunu, pokud víme, kdy světlo působí.

Světlo působící během časně subjektivní noci vyvolává fázové zpoždění, které v principu prodlužuje vnitřní periodu. Během pozdní subjektivní noci naopak dochází působením světla k fázovému předběhnutí, délka periody se tedy zkracuje. Během subjektivního dne probíhá pouze malý fázový posun. Tato část je proto občas nazývána „mrtvá zóna“.



**Obrázek 2.** Fázové posuny a fázově-responzní křivka. V horním panelu jsou zobrazeny fáze rytmu pohybové aktivity nočního živočicha na světelný pulz během 1) subjektivního dne (horní aktogram vlevo), 2) časné subjektivní noci (fázové zpoždění; horní aktogram uprostřed), 3) pozdní subjektivní noci (fázové předběhnutí; horní aktogram vpravo). V dolním panelu jsou znázorněny fázové odpovědi na jiný než světelný synchronizátor působící v 4) polovině subjektivního dne (fázové předběhnutí; dolní aktogram vlevo) a 5) během subjektivní noci (bez odezvy; dolní aktogram vpravo). Graf ve středu obrázku znázorňuje obě fázové křivky, PRC na světelný stimul (plná čára) a PRC na nesvětelný stimul (čárkovaně). Fázové předběhnutí je značeno kladnými hodnotami, naopak fázové zpoždění jde do záporných hodnot. Tvar a amplituda PRC jsou specifické pro každý živočišný druh. PŘEVZATO z (Golombek and Rosenstein, 2010) UPRAVENO.

### 3.3 Synchronizace periferních orgánů světlem

Světelný signál ovlivňuje SCN, a jeho prostřednictvím také periferní orgány. SCN reaguje na fázové posuny světelného režimu velmi rychle – synchronizuje se rychlostí přibližně za jeden cyklus neboli 1 den na 1 hodinový posun světelného režimu, což je mnohem rychlejší než u periferních orgánů. Periferní tkáně se synchronizují odlišně, nejdéle se synchronizují játra, která potřebují na synchronizaci i delší dobu než týden (Yamazaki *et al.*, 2000).

SCN předává synchronizační signál periferním orgánům několika cestami. Jedním z hlavních signálů je časovaný výlev neurohormonu melatoninu z epifýzy.



### 3.3.1 Melatonin

Melatonin (N-Acetyl-5-methoxytryptamin) má v organismu celou řadu funkcí. Prochází buněčnou membránou jako malá lipofilní molekula a účinkuje jako jaderná nebo cytoplazmatická molekula přes tři typy receptorů. Melatoninové receptory MT1 a MT2 se řadí do rodiny receptorů spojených s inhibičními G-proteiny (Reppert, 1997) a jsou přítomny u lidí a dalších savců (Reppert *et al.*, 1988). Oproti tomu melatoninový receptor MT3 byl identifikován u obojživelníků a u ptáků (Ebisawa *et al.*, 1994). MT1, 2 jsou membránové receptory, MT3 spadá do skupiny reduktáz.

Uvolněný melatonin zpětně působí na SCN a moduluje oscilace prostřednictvím melatoninových receptorů MT1 a MT2 (Vaněček *et al.*, 1987). Aktivace receptoru MT1 vede k inhibici tvorby cyklického adenosin 3', 5' monofosfátu (cAMP) a k inhibici proteinkinázy A (PKA). Aktivace receptoru MT vede také k inhibici tvorby cAMP a zároveň inhibuje i tvorbu cyklického guanylát monofosfátu (cGMP). U nočních i denních živočichů je působení melatoninu na SCN stejné. Je-li melatonin podán v pozdní fázi subjektivního dne, je schopen vyvolat předběhnutí cirkadiánní rytmicity (Pitrosky *et al.*, 1999). Melatoninové receptory se nachází i v mnoha periferních tkáních, například v kůži, v ledvinách, v srdci atd. (Drew *et al.*, 2001).

Délka signálu melatoninu informuje organismy o denní a roční době a je hlavní spouštěč fotoperiodických změn v organismu, jako například počátek rozmnožování živočichů nebo nástup dormance. Je to dáno tím, že je tvořen pouze v noci. V zimě jsou noci dlouhé, tedy i melatoninový signál je dlouhý. V létě je to naopak (Illnerová and Vaněček, 1984).

Melatonin je také znám svými protinádorovými účinky. Patří sem jeho nepřímé účinky odvozené z jeho interakce s neuroendokrinní osou (Reiter, 1980) vedoucí k snižování hladiny některých hormonů (například estrogenů) ovlivňující růst nádorů. Melatonin snižuje cirkulující hladinu estrogenů a působí tedy protinádorově zejména u rakoviny prsu a vaječnicků. Mezi jeho další protinádorové účinky patří účinky odvozené z jeho inhibičních činností na aktivitu telomerázy v nádorových buňkách (Leon-Blanco *et al.*, 2003).

Kromě své synchronizační a protinádorové funkce má melatonin dále vliv na tělesnou hmotnost díky regulaci viscerálního tuku, plazmatického leptinu a hladiny inzulinu (Wolden-Hanson *et al.*, 2000).

### 3.3.1.1 Syntéza melatoninu

SCN ovlivňuje funkci epifyzy skrze multisynaptickou dráhou, která začíná GABAergní projekcí do paraventriculárního jádra hypotalamu (PVN) a dále pokračuje glutamatergní projekcí do intermediálního sloupce míchy (IML). Poté dráha pokračuje do superiorního cervikálního ganglia sympatiku (SCG). Postgangliové neurony SCG vedou k epifyze. Tam dochází během noci k výlevu noradrenalinu (NA) ze synaptického zakončení. NA váže na  $\beta$ -adrenergní receptory pinealocytů.

Během dne je vysoká elektrická aktivita SCN, což zvyšuje aktivitu GABAergní inhibice paraventriculárního jádra. Ustává tonická aktivace IML z PVN a uvolňování NA je tedy potlačeno. Během noci se NA naváže na  $\beta$ -adrenergní receptory a zvýší se hladina cAMP (Karasek *et al.*, 1978). To stimuluje PKA, která poté aktivuje transkripci genu pro enzym arylalkylamin N-acetyltransferázu (*aanat*; Klein and Weller, 1970), která je tak pod přímou kontrolou SCN. Enzym AANAT je klíčový v syntetické řadě melatoninu a proto i hladina melatoninu vykazuje cirkadiální rytmus v závislosti na regulaci tohoto enzymu. Množství uvolněného melatoninu závisí tedy na délce aktivity AANAT. V noci, kdy je hladina AANAT vysoká, stoupá i hladina melatoninu. Melatonin je nakonec sekretován do krve a mozkomíšního moku (Hickman *et al.*, 1999).

Světlo může ovlivnit syntézu melatoninu a to hned třemi způsoby: 1) změnou fotoperiody může změnit délku melatoninového signálu, což je důležitý fotostimul pro fotoperiodické změny v organismu, 2) fázovým posunem cirkadiální rytmicity SCN a tím i posunem fáze začátku a konce syntézy melatoninu nebo 3) potlačením syntézy melatoninu expozicí světla v noci. V případě vystavení se světlu v noci dochází ke zvýšení elektrické aktivity v SCN. To způsobí zvýšení inhibiční neurotransmise do PVN a dochází tedy k zastavení syntézy melatoninu stejně jako se to děje ve světelné části dne (Kalsbeek *et al.*, 2000).

## 3.4 Molekulární podstata světelné synchronizace

Do celkem nedávné doby se mělo obecně za to, že za vnímání světla jsou zodpovědné pouze tyčinky a čípky v sítnici oka. Později se ale zjistilo, že existuje i jiný typ fotoreceptorů. Toto naznačila například studie, která prokázala snížení syntézy melatoninu u slepců bez funkčních tyčinek a čípků po osvětlení v noci (Lockley *et al.*, 1997). V roce 2001 byl popsán tento typ fotoreceptorů cirkadiálního systému, v gangliových buňkách ipRGC. Tyto buňky obsahují fotosenzitivní pigment melanopsin, který transdukuje fotony do elektrické aktivity a

jeho axony formují RHT vedoucí do SCN. IpRGC fungují jako detektor intenzity světla nikoliv kontrastu jako tyčinky nebo čípky a zaznamenávají tedy celkovou dobu osvitů sítnice (Provencio *et al.*, 2000). Pokud klasické fotoreceptory nefungují, mohou ipRGC částečně přebrat jejich roli a zajistit, aby cirkadiánní systém měl přístup ke světlu v každém případě.

Po osvětlení sítnice oka dojde k vylíčení mediátoru glutamátu z RHT na synapsi s neurony SCN. Na přenosu se podílí také hypofyzární adenylát cyklázu aktivující protein neboli PACAP (z angl. „*pituitary adenylate cyclaseactivating peptide*“) a substance P (Hamada *et al.*, 1999). Hlavním mediátorem je ale glutamát. Glutamát se následně váže na N-methyl-D-aspartátové (NMDA) receptory. Tyto receptory se nachází na neuronální postsynaptické membráně SCN. Po vazbě glutamátu na NMDA receptor dojde ke vstupu extracelulárního  $Ca^{2+}$  do buňky. Zvýšený vtok vápníku vede až k fosforylaci transkripčního faktoru CREB (z anglického „*cAMP response element-binding protein*“), který se v oblasti promotoru cílových genů váže na CRE vazebný element (z anglického „*cAMP response element*“). Intracelulární kaskáda se liší v závislosti na tom, jestli světlo vyvolává fázové předběhnutí nebo zpoždění. V případě, že světlo působí v první polovině subjektivní noci, vylitý glutamát aktivuje MAP kinázovou dráhu. Tato kináza fosforyluje CREB, ten se pomocí CRE elementů naváže do promotoru hodinových genů a následně aktivuje jejich expresi. V případě, že světelný signál působí v druhé polovině subjektivní noci, tak  $Ca^{2+}$  indukuje  $Ca^{2+}$  dependentní kalmodulin protein kinázu. Tato kináza aktivuje NO syntázu (NOS). Následně dochází k aktivaci guanylát cyklázy (GC), která přemění necyklický guanylát monofosfát (GMP) na cyklický (cGMP). cGMP aktivuje cGMP dependentní protein kinázu (PKG). Tato protein kináza fosforyluje CREB (Ding *et al.*, 1997).

Vazba na CRE tedy spustí genovou expresi hodinových genů *Per*. Díky tomu dochází k fázovému posunu a k seřízení periody (Trávníčková-Bendová *et al.*, 2002). Světlo je schopné indukovat expresi *Per1* a *Per2* genů v noci, tedy když je jeho endogenní hladina nízká. Tím mění dynamiku zpětnovazebných regulačních smyček hodinových genů, a to je základní mechanismus synchronizace.

## 4. Působení stálého světla na cirkadiánní systém

Cirkadiánní systém je složen z jednotlivých periferních oscilátorů organizovaných tak, aby řídily souvislý denní rytmus ve všech fyziologických funkcích. V konstantním prostředí stálé tmy běží cirkadiánní hodiny volným během. V prostředí stálého světla nastává volný běh zpočátku také, již po sedmi dnech vystavení stálému světlu se cirkadiánní systém myší rozběhl s periodou 25,4 hodin (Sudo *et al.*, 2003). Dlouhodobá expozice stálému světlu může rozdělit rytmus volného běhu na 2 komponenty nebo se měřené parametry mohou stát arytmičné (Pittendrigh and Daan, 1976). V případě, že se rytmus volného běhu rozdělil na dva komponenty, tak jsou rytmy sice v každém SCN jádru synchronizované, rozdíl je ale v tom, že buňky v levém a v pravém SCN mohou oscilovat klidně až v antifázi, s akrofází až 12 hodin od sebe (Ohta *et al.*, 2005). Arytmie vyplývající z expozice stálému světlu může být způsobena desynchronizací menších oscilátorů v rámci SCN (Rusak, 1977), což vede k selhání neuronů SCN v generování jednotné stabilní cirkadiánní periody (Jiang *et al.*, 1997; Ohta *et al.*, 2005).

Expozice stálému světlu dále snižuje amplitudu rytmu *Bmal1* v SCN. Tato redukce způsobí snížení amplitudy cirkadiánních rytmů měřené expresí *Per2*, protože *Bmal1* pozitivně reguluje expresi genu *Per2* ve zpětnovazebné smyčce. Již po 7 dnech stálého světla byla cirkadiánní exprese genu *Per2* tlumená, později zde dokonce nebyl žádný rytmus. Stálé světlo má tedy vliv na expresi proteinu PER2 v SCN. Po expozici stálému světlu byl snížen počet buněk exprimujících PER2 a zároveň byla zpožděna akrofáze rytmu exprese (Sudo *et al.*, 2003).

Ztráta mezibuněčné synchronizace v SCN je důvod snížené amplitudy cirkadiánních oscilací v periferních oscilátorech. Některé periferní oscilátory dokáží pracovat autonomně, ale postrádají vazebné mechanismy, které udržují jejich časovou organizaci na úrovni tkání. To jim nahrazují synchronizační signály přicházející z SCN. Na stálém světle je však fáze hlavního pacemakeru nejasná a periferní orgány nedostávají dostatečné synchronizační signály z SCN. V důsledku toho jsou vzájemně desynchronizovány (Ohta *et al.*, 2005).

Expozice stálému světlu tedy desynchronizuje cirkadiánní hodiny tím, že ovlivňuje synchronizaci mezi jednotlivými oscilátory. Neovlivňuje ale schopnost jednotlivých oscilátorů generovat cirkadiánní rytmus.

## 5. Patologie způsobené desynchronizací cirkadiálního systému stálým světlem

Cirkadiální systém výrazně ovlivňuje fyziologické děje. Narušení tohoto systému proto může způsobit různé patologické změny. Správně synchronizovaný cirkadiální rytmus je tedy důležitý pro přežití jedince. Působení stálého světla na organismus vyvolá desynchronizaci cirkadiálních cyklů a právě tato desynchronizace vede k bezpočtu patologiím. V této práci jsem se zaměřila na nádory, obezitu a inzulínovou deficienci, na imunosenescenci a na schizofrenii. Patologií však existuje mnohem více, a proto je důležité prohlubovat poznatky o této problematice.

### 5.1 Nádory

Nádory vznikají nekontrolovanou proliferací buněk. Nádorové buňky dokážou uniknout z mechanismů kontroly buněčného dělení a apoptózy. V těchto mechanismech je zapojen i cirkadiální systém. Cirkadiální systém je spojen s buněčným cyklem hodinově řízenými geny, které se vážou na E-box. Cirkadiální hodiny regulují buněčný cyklus v bodech G1/S a G2/M. Konkrétně cirkadiální regulátory PER1,2 spojují cirkadiální hodiny s řízením buněčného cyklu. Narušení exprese genů *Per1,2* způsobuje dysfunkci kontrolních bodů v buněčném cyklu (Gery *et al.*, 2006). Pod kontrolou cirkadiálních hodin je zároveň exprese regulátorů buněčného cyklu. Mezi tyto regulátory patří c-Myc a kináza *Weel*.

Centrální hodiny v SCN regulují buněčné dělení a apoptózu v periferních orgánech regulací periferních hodin. Tyto fyziologické procesy v periferních tkáních jsou řízeny tkáňově řízenými geny *p21* a *Weel* (You *et al.*, 2005). Protein P21 zprostředkovává *p53* supresorovou aktivitu. Tyrozinová kináza *Weel* je regulátor G2 kontrolního bodu, která inhibuje cyklin dependentní kinázu 2 fosforylací tyrosinu. Cyklin dependentní kináza 2 indukuje progresi G2/M fáze buněčného cyklu (Connell *et al.*, 1997). Regulace periferních hodin je vedena neuroendokrinním systémem, např. melatoninem (viz výše) a autonomním nervovým systémem (ANS). ANS inervuje všechny periferní tkáně, kromě tkáně kosterního svalstva. Poruchy těchto regulačních mechanismů vyústí v deregulaci kontroly buněčného cyklu v jednotlivých orgánech. Jak bylo zmíněno v kapitole 2.1.2., k seřizování periferních hodin jsou důležité CCGs, mezi které patří c-Myc a *p53*. Onkogen c-Myc zabraňuje apoptóze a jeho nadměrná exprese způsobuje dělení buněk i s poškozenou DNA. Jeho nadměrná exprese je způsobena inaktivací genu *Per2*, která způsobuje deregulaci exprese BMAL1, což má za následek právě

nadměrnou expresi c-Myc, která způsobuje vysoký výskyt nádoru. Transkripční faktor *p53* působící jako tumor supresorový gen, inhibuje aktivitu c-Myc, aktivuje opravy DNA a aktivuje i apoptózu poškozených buněk. P53 zároveň kontroluje kontrolní body v buněčném cyklu a reguluje expresi *Per2* blokováním komplexu CLOCK/BMAL1. Proteiny PER jsou navíc součástí komplexu kontrolních bodů v buněčném cyklu, které řeší poškozenou DNA, role cirkadiálních hodin je tedy dvojitá.

Důkaz, že stálé světlo zvyšuje riziko pravděpodobnosti výskytu rakoviny přinesla například studie od autorů Guerrero-Vargas *et al.*, (2017). Studie vychází z hypotézy, že cirkadiální deregulace indukovaná stálým světlem podporuje vývoj nádoru tím, že změní zánětlivou reakci a metabolismus hostitele, což vytváří vhodné podmínky pro růst nádorů. Účinky desynchronizace cirkadiálního systému na růst nádorů byly pozorovány u dvou skupin potkanů po dobu 5 týdnů. Jedna skupina byla vystavena stálému světlu, druhá skupina byla vystavena přirozenému režimu střídání světla a tmy. Oběma skupinám potkanů byla podána dávka nádorových buněk C6 buněčné linie gliomu pod kůži. Studie potvrdila, že nádorové buňky rostou více u skupiny, která byla vystavena stálému světlu. Již po 11 dnech po aplikaci nádorových buněk byl pozorován téměř dvojnásobný objem nádorové tkáně oproti skupině chované na standardním světelném režimu. U skupiny chované pod stálým světlem bylo zároveň pozorováno zvýšení protizánětlivé reakce na lipopolysacharidy, a tedy zvýšená produkce makrofágů v nádorové tkáni. Dále byla pozorována zvýšená exprese některých lipogenních genů (*Acaca*, *Fasn*, *Ppary*). Zvýšená exprese byla pozorována i u genu *Glut1* (z anglického „*glucosetransporter 1*“) pro transport glukózy a u genů podporující růst nádorové tkáně (*Vegfa*, *Myc*, *Ir*). Můžeme tedy říct, že metabolické změny způsobené vystavením stálému světlu vytvářejí vhodné podmínky pro růst nádorů.

### 5.1.1 Nádor vaječníků

Recentní studie sepsaná Khan *et al.*, (2018) je prvním důkazem o vývoji nádorů na vaječniku v souvislosti s desynchronizací cirkadiálního systému u rybek *Danio rerio*. Experiment byl prováděn na *Danio rerio* ve třech experimentálních podmínkách: kontinuálním světlem působícím po dobu jednoho týdne, jednoho měsíce a jednoho roku. *Danio rerio* byla vybrána z důvodu, že genomová organizace a regulace dráhy přenosu signálu je blízká člověku, což činí z této ryбки ideální model pro studování příčin některých lidských onemocnění.

V experimentu byla zjištěna ztráta rytmicity a nižší koncentrace melatoninu v mozku, sítnici a vaječniku. Stálé světlo mělo také vliv na parametry rytmu genů *Clock1*, *Bmal1*, *Per2*

a *Cry2*. Gen *Cry2* byl dokonce arytmičtější ve všech experimentálních podmínkách. Geny *Per2* a *Bmal1* byly arytmičtější v podmínkách stálého světla až po jednom měsíci působení a pochopitelně také po jednom roce na stálém světle. Stálé světlo také způsobilo desynchronizaci v expresi mezi *Per2* a *Cry2* a mezi *Clock1* a *Bmal1*.

Po měsíční expozici stálému světle bylo ve vaječnickové tkáni pozorováno zvýšení hladiny zánětlivého cytokinu  $\text{TNF}\alpha$  (z anglického „*tumor necrosis factor*  $\alpha$ “) a nukleárního faktoru  $\kappa\text{B}$  ( $\text{NF}\kappa\text{B}$ , z anglického „*nuclear factor*  $\kappa\text{B}$ “).  $\text{NF}\kappa\text{B}$  je regulátor transkripce a má významnou roli v buněčné transformaci a v procesu tumorogeneze. Nádorová činnost regulátoru transkripce je urychlena zánětlivými cytokiny  $\text{TNF}\alpha$  (Pikarsky *et al.*, 2004). V experimentu bylo dokázáno, že pod stálým světlem je hladina  $\text{NF}\kappa\text{B}$  vysoká za jeden rok a že dochází k tvorbě nádorů vaječníků. Nádory vaječníků jsou spojeny se zvýšenou hladinou estrogenů. Nárůst hladiny estrogenů byl v experimentu pozorován po měsíční expozici stálému světle.

Studie Khan *et al.*, (2018) poprvé ukázala účinek dlouhodobého kontinuálního osvětlení na hodinové geny ve vaječniku. Dokázala celkovou ztrátu synchronizace cirkadiálních hodin na úrovni genů a zároveň dokázala zvýšenou tvorbu nádorů vaječníků.

### 5.1.2 Rakovina prsu

Zvýšený výskyt rakoviny prsu ve vyspělých zemích je často spojován se světelným znečištěním v noci (Stevens and Rea, 2001; Davis *et al.*, 2001). Účinek stálého světla na výskyt rakovinu prsu podporuje fakt, že u slepých žen je výskyt rakoviny prsu méně častý (Coleman and Reiter, 1992). Lze to vysvětlit úplným nebo částečným potlačením působení na cirkadiálního systém, což má za následek zvýšení produkce melatoninu. Naopak vysoký výskyt rakoviny prsu byl pozorován u žen, které byly vystaveny stálému světle v noci, například u pracovnic na směny (Davis *et al.*, 2001). U těchto žen byla pozorována snížená produkce melatoninu. Světlo během tmy potlačuje produkci melatoninu, což by mohlo znamenat zvýšení syntézy estrogenu, protože melatonin působí jako antiestrogenový faktor (Molis *et al.*, 1994).

Studie Cos *et al.*, (2006) potvrdila, že expozice světlu v noci může být faktorem, který zvyšuje riziko rakoviny prsu. Konstantní světlo způsobilo u pokusných potkanů sníženou latenci a zvýšený počet nádorů prsu vyvolaných dimethylbenzathracenem (DMBA), látkou, která nádor prsu indikuje (Anderson *et al.*, 2000). V experimentu byly testovány samice potkanů ve věku 55 dní, které dostávaly jednorázové dávky DMBA. Zvířata byla rozdělena do

4 experimentálních skupin, podle definovaných světelných režimů: LD (z anglického „*light dark*“) skupina s 12 hodinami světla (300lux)/12 hodinami tmy, LL (z anglického „*light light*“) skupina chovaná na konstantním osvětlení (300 lux), LD<sub>PLE</sub> skupina, chovaná stejně jako LD skupina, ale navíc v polovině noci dostávala 30min světelný pulz (300 lux) a LD<sub>CDLE</sub> skupina, chovaná stejně jako LD skupina, ale během noci neměla úplnou tmu, nýbrž tlumené světlo (0,21 lux) v noci.

Studie ukázala, že potkani vystavení LL, LD<sub>PLE</sub> a LD<sub>CDLE</sub> vykazovali podstatně rychlejší růst nádorů, oproti potkanům vystaveným podmínkám LD. U potkanů vystavených LL, LD<sub>PLE</sub> a LD<sub>CDLE</sub> byla zároveň pozorována snížená sekrece melatoninu. Silné účinky tlumeného světla v noci na růst nádorů prsu mohou záviset na poklesu produkce melatoninu, desynchronizaci či arytmičtě metabolických procesů a následném zvýšení koncentrace estradiolu. Je také známo, že expozice konstantnímu světlu modifikuje kontrolu sekrece prolaktinu (PRL) zvýšením odpovědi na estradiol (Vatican *et al.*, 1980). Prolaktin je hormon hypofýzy, který ovlivňuje růst nádorů prsu vyvolaných DMBA (Rose and Noonan, 1982). Studie od autorů Cos *et al.*, (2006) dokázala, že růst nádorů prsu vyvolaný DMBA je zvýšený u potkanů vystavených stálému světlu v noci.

## 5.2 Obezita a inzulínová rezistence

Periferní hodiny se nachází i v tukové tkáni. Tuková tkáň produkuje hormon leptin a adiponektin. Ze slinivky břišní je vylučován inzulin, který stimuluje produkci leptinu. Tyto hormony vykazují cirkadiální změny ve své koncentraci a dostávají se do hypotalamu (Ahima *et al.*, 1998; Ando *et al.*, 2005). Ghrelin je hormon, který je tvořen převážně enteroendokrinními buňkami žaludeční a střevní sliznice. Stimuluje chuť k jídlu podporou činnosti hypotalamických neuronů produkujících NPY. Leptin naopak indukuje pocit sytosti. Zároveň inhibuje sekreci ghreluinu, a inzulinu, který podporuje ukládání tuků (Shintani *et al.*, 2001). Hladina plazmatického leptinu je přitom přímo úměrná velikosti tukové tkáně, která jej produkuje. Nárůst tukové tkáně zvedá hladinu leptinu, ten inhibuje produkci inzulinu, takže i další ukládání tuku (Segal *et al.*, 1996).

Během obezity dochází k hormonální nerovnováze. Hodně tukové tkáně znamená hodně leptinu, což dlouhodobě vyvolává sníženou odpověď na leptin a insulin proto není dostatečně inhibován. Desynchronizace těchto periferních hodin v tukové tkáni vede ke změněné produkci hormonů důležitých pro energetický metabolismus. To může ve výsledku vézt až k obezitě a



k dalším s obezitou spojeným patologiím, např. s diabetem (Morikawa *et al.*, 2005; Pan *et al.*, 2011; Mukherji *et al.*, 2015).

Rostoucí výskyt obezity a diabetu 2. typu se v průběhu 20. století koreluje s narušováním cirkadiálních rytmů zvyšující se intenzitou světla v noci. Poruchy glukózové a energetické homeostázy vlivem konstantního světla byly laboratorně prokázány například studií Coomans *et al.*, (2013). Snížení amplitudy rytmu neurální aktivity v SCN chováním myši na stálém světle vedlo k úplné ztrátě cirkadiálních rytmů v energetickém metabolismu a v citlivosti na inzulín. Tato nižší citlivost byla výsledkem periferní inzulínové rezistence. Výsledky experimentu dokonce naznačují, že stálé světlo zvyšuje tělesnou hmotnost rychleji než strava s vysokým obsahem tuku. Údaje z experimentu ukazují, že přestože krmení s vysokým obsahem tuku vede k fenotypu obezity/inzulínové rezistence, citlivost na inzulín zůstává pod cirkadiální regulací.

Jiný experiment ukázal, že narušený cirkadiální cyklus stálým světlem vede k deregulaci genů pro regulaci glukózy v játrech, jako je PEPck (z anglického „*phosphoenolpyruvate carboxykinase*“), *Glut2* (z anglického „*glucose transporter 2*“), G6PC (z anglického „*glucose 6-phosphatase*“; Cailotto *et al.*, 2009). Deregulace genů pro regulaci glukózy v játrech a svalu může být základem narušení citlivosti na inzulín, která byla nalezena u myši chovaných pod stálým světlem v této studii.

### 5.3 Předčasné stárnutí

Stárnutí neboli senescence je komplikovaný proces, který je spojen mimo jiné s poklesem imunitních funkcí (imunosenescencí). Během imunosenescence dochází ke stimulaci tvorby prozánětlivých cytokinů. To je důvod, proč má imunosenescence dopad na výskyt infekčních onemocnění, rakoviny, autoimunitních onemocnění a mortality u starších osob. (Hakim *et al.*, 2004). Stálé světlo může tento proces urychlit. Příkladem je následující studie.

V experimentu od autorů El-Bakry *et al.*, (2018) byli mladí potkani (3-4 měsíců) vystaveni konstantnímu světlu po dobu 12 týdnů a to buď samostatně nebo v kombinaci s aplikací melatoninu pětikrát týdně. Stálé světlo mělo za následek patofyziologické změny, které byly normálně pozorované až u starých potkanů. Mezi tyto patofyziologické změny patří zvýšení oxidačního stresu, snížení exprese Nrf-2 (z anglického „*nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2*“), což je hlavní regulátor adaptivní antioxidační aktivity (Hybertson *et al.*, 2011), řídí totiž expresi řady genů citlivých na oxidační stres a proto reguluje nespočet procesů, jako například imunitní funkce, zánětlivé odpovědi a karcinogenezi. Dále mezi

patofyziologické změny patří snížení exprese PARK7 (z anglického „*Parkinson disease protein 7*“), který se podílí na stabilizaci Nrf2 (Clements *et al.*, 2006) a zvýšení exprese genů TNF $\alpha$ , *Bax* a *p53*. Současné podávání melatoninu však bylo schopné tyto změny zvrátit. Stálé světlo tedy ovlivňuje imunosenescenci prostřednictvím oxidativního stresu a apoptických drah. Expozice stálému světlu zvýší oxidativní stres a to může poškodit imunitní buňky a zvýšit rychlost fyziologického stárnutí. Exprese Nrf-2 přirozeně klesá se stárnutím (Ungvari *et al.*, 2011), expozice stálému světlu toto snížení urychluje. PARK7 byl původně identifikován jako onkogen a defekty v něm jsou spojeny s autozomálně recesivním onemocněním, které se nazývá Parkinsonova choroba (Lockhart *et al.*, 2004). Nyní ale už víme, že také chrání buňky proti oxidativnímu stresu a buněčné smrti (Singh *et al.*, 2015). Apoptóza hraje zásadní roli ve změnách imunitního systému souvisejících s věkem (Al-Naimi *et al.*, 2004). Protein P53 přispívá k regulaci stárnutí a patologických odpovědí. Snižuje hladinu Bcl-2, který zabraňuje buňkám podstoupit apoptózu, stejně jako zvyšuje regulaci promotoru *Bax*, což je gen, který kóduje inhibitor Bcl-2 proteinu. Změní se tedy poměr Bcl-2/*Bax* a tato změna vyvolá programovanou buněčnou smrt, protože je potlačena funkce Bcl-2.

Tato studie dokázala, že expozice stálému světlu způsobuje změny, které se za normálních okolností vyskytují až u starších jedinců. Stálé světlo tedy způsobuje předčasné stárnutí. Melatonin to však dokáže potlačit.

## 5.4 Schizofrenie

Schizofrenie patří mezi psychotická onemocnění a nejčastěji jde o poruchu mnoha duševních funkcí (například vnímání a myšlení), motoriky, osobnosti atd. Různé psychiatrické poruchy, včetně schizofrenie, úzce souvisí s poruchami spánku a s různými poruchami cirkadiálních rytmů. Bylo dokázáno, že až u 80 % pacientů trpících schizofrenií se objevuje problém přerušovaného spánku. Přerušovaný spánek je často doprovázen nestabilními cirkadiálními rytmy a desynchronizací mezi fází vnitřních cirkadiálních hodin a vnějšího prostředí (Wulff *et al.*, 2012).

Efekt stálého světla a jeho vliv na schizofrenii byl studován například ve studii Bhardwaj *et al.*, (2015). Jeho nežádoucí účinky byly zkoumány na myších Sandy (Sdy). U těchto dysbindin deficientních myší je zrušená exprese proteinu dysbindin-1. Dysbindin-1 je protein, který je kódovaný genem *Dtnbp1*. Deficience tohoto genu zvyšuje riziko schizofrenie (Straub *et al.*, 2002).

Autoři sledovali změny v cirkadiánním rytmu lokomoční aktivity u Sdy a wild typy myší za různých světelných podmínek a testovali, zda mají konstantní světelné podmínky odlišný vliv na Sdy myši a myši divokého typu. Působení stálého světla mělo za následek prodlouženou endogenní periodu u Sdy myší (25,5h.) v porovnání s wild type (24,9h.). U wild typy byla endogenní perioda také prodloužena, ale ne tak výrazně. Poměr aktivní fáze během subjektivního dne vůči aktivní fázi během subjektivní noci byl u Sdy myší dokonce třikrát větší než u wild type. Z toho vyplývá, že cirkadiánní hodiny u Sdy myší byly více citlivé na expozici stálému světlu. V hladinách vylučování kortikosteronu nebyl pozorován rozdíl mezi Sdy myšmi a wild type myšmi v podmínkách stálého světla ani v podmínkách střídání světla a tmy. Bylo také zjištěno, že expozice stálému světlu způsobuje trvalý dopad na chování u *Dtnbpl* deficientních myší. U těchto myší bylo pozorováno typické chování pro schizofrenii (například časté změny nálady, úzkost, deprese), které nebylo pozorováno u wild myší. Opětovné vrácení myší do klasického cyklu světlo-tma totiž nezvrátilo vytvořený deficit v rytmu lokomoční aktivity.

Ze studie vyplývá, že kontinuální světelné podmínky vyvolávají cirkadiánní poruchy, které mohou vést k chování podobné schizofrenii, a že tyto účinky přetrvávají i po změně světelných podmínek. Moderní životní styl (na příklad práce na směny) a změny v chování a ve fyziologických rytmech tímto způsobem mohou působit jako predispoziční faktor schizofrenie.

## 6. Závěr

Fyziologické a behaviorální funkce člověka jsou řízeny cirkadiánním rytmem, který má periodu 24 hodin. Tento rytmus je řízen pomocí hlavního oscilátoru, který se nachází v SCN v hypotalamu. V periferních tkáních se nachází další, tzv. periferní hodiny. Periferní hodiny jsou autonomní jednotka, dokáží vytvářet vlastní periodu na principu transkripčně/translační zpětnovazebné smyčky, SCN ale pomáhá těmto periferním hodinám synchronizovat jejich rytmus s vnějšími světelnými podmínkami a mezi sebou navzájem.

Hlavní cirkadiánní *zeitgeber* je střídání světla a tmy během dne a noci, které synchronizuje hodiny s časem ve vnějším prostředí. Světlo zařizuje udržení správného načasování aktivity vzhledem k denní době. Dobře synchronizovaná fáze aktivity je u většiny živočišných druhů důležitá pro přežití. U člověka lze mnoha zdravotním poruchám předcházet pravidelným denním režimem. V moderní společnosti se však význam světelné synchronizace ztrácí a to jak pro člověka, tak pro další živočišné druhy.

Tato práce se věnovala problémům způsobeným stálým světlem. Expozice stálému světlu desynchronizuje cirkadiánní hodiny a cirkadiánní rytmy v takových podmínkách chvíli běží „volným během“. Nízká amplituda rytmu v aktivitě SCN způsobená stálým světlem dále způsobuje arytmičné cirkadiánní rytmy ve fyziologii i chování. Stálé světlo narušuje synchronizaci u fází rytmů jednotlivých neuronů SCN. Schopnost neuronů produkovat cirkadiánní rytmy molekulárním mechanismem ale zůstává neporušená. Avšak během expozice stálému světlu, v důsledku desynchronizace mezi neurony SCN, dochází ke snížení exprese hodinových genů.

Jedna z patologií, na kterou se práce zaměřila, je rakovina. Výsledky pokusů ukázaly, že desynchronizace stálým světlem může podporovat vývoj nádorů. Je to dáno tím, že cirkadiánní systém úzce souvisí s buněčným cyklem a narušení těchto cyklů konstantním světlem usnadňuje proliferaci nádorových buněk. Chování laboratorních zvířat v podmínkách konstantního světla způsobuje rychlejší růst nádorů například prsu či vaječníku.

Další patologie dávána do souvislosti se zvýšenou intenzitou světla v noci je obezita a s ní spojená inzulínová rezistence. Ukázalo se, že snížení amplitudy rytmu v SCN vede k úplné ztrátě cirkadiánních rytmů v energetickém metabolismu a v citlivosti na inzulín. Snížení amplitudy rytmu neurální aktivity v SCN silně narušuje energetickou homeostázu, čímž přispívá k rozvoji obezity a inzulínové rezistence. Studie dokonce ukázala, že cirkadiánní desynchronizace stálým světlem zvyšuje tělesnou hmotnost rychleji než potrava s vysokým obsahem tuku.

Konstantní světlo také způsobuje takové patologické změny, které jsou normálně patrné až u starších jedinců. Mezi tyto patologické změny patří zvýšení oxidačního stresu, snížení exprese Nrf-2 a PARK7, zvýšení oxidativního stresu, zvýšení exprese genů TNF $\alpha$ , Bax a p53 genů. Stálé světlo tedy způsobuje předčasné stárnutí.

V této práci jsem se nakonec zaměřila na souvislost mezi stálým světlem a schizofrenií. Je obecně známo, že schizofrenie úzce souvisí s poruchami spánku a s různými cirkadiálními deformacemi. Spánková porucha je hlášena u 30-80 % pacientů se schizofrenií (Cohrs, 2008). Zmíněná studie zkoumala, zda expozice stálému světlu může vyvolat schizofrenii. Expozice stálému světlu měla za následek prodlouženou endogenní periodu. Cirkadiální hodiny u Sdy myši byly citlivější na expozici stálému světlu oproti wild type. U Sdy myši pod stálým světlem bylo pozorování chování odpovídající schizofrenii, například úzkost a deprese. Stálé světlo tedy může způsobit takové poruchy cirkadiálního systému, které ve finále působí jako predispoziční faktor schizofrenie.

Cílem této práce bylo shrnout současné vědecké poznatky o desynchronizaci cirkadiálního systému působením stálého světla. Ukázalo se, že stálé světlo má zásadní dopad na fungování cirkadiálních hodin. Stálé světlo cirkadiální hodiny desynchronizuje a díky tomu vzniká nemálo patologií, které však jdou často zvrátit právě správnou synchronizací cirkadiálního systému – tedy vystavením ideálním světelným podmínkám. Pro desynchronizaci cirkadiálního systému stálým světlem je riziková například práce na směny či pásmová nemoc. Podávání melatoninu v mnoha případech pomohlo k synchronizaci cirkadiálních rytmů, nikdy to však nevyřešilo celý problém.

## 7. Seznam literatury

- Abrahamson, E.E., Moore, R.Y. (2001). Suprachiasmatic nucleus in the mouse: retinal innervation, intrinsic organization and efferent projections. *Brain Res.* 916, 172–191.
- Ahima, R.S., Prabakaran, D., Flier, J.S. (1998). Postnatal leptin surge and regulation of circadian rhythm of leptin by feeding. *J. Clin. Invest.* 101, 1022–1026.
- Al-Naimi, S., Hampton, S.M., Richard, P., Tzung, C., Morgan, L.M. (2004). Postprandial metabolic profiles following meals and snacks eaten during simulated night and day shift work. *Chronobiol. Int.* 21, 937–947.
- Albus, H., Vansteensel, M.J., Michel, S., Block, G.D., Meijer, J.H. (2005). A GABAergic mechanism is necessary for coupling dissociable ventral and dorsal regional oscillators within the circadian clock. *Curr. Biol.* 15, 886–893.
- Anderson, L.E., Morris, J.E., Sasser, L.B., Stevens, R.G. (2000). Effect of constant light on DMBA mammary tumorigenesis in rats. *Cancer Lett.* 148, 121–126.
- Ando, H., Yanagihara, H., Hayashi, Y., Obi, Y., Tsuruoka, S., Takamura, T., Kaneko, S., Fujimura, A. (2005). Rhythmic messenger ribonucleic acid expression of clock genes and adipocytokines in mouse visceral adipose tissue. *Endocrinology* 146, 5631–5636.
- \*Antle, M.C., Silver, R. (2005). Orchestrating time: Arrangements of the brain circadian clock. *Trends Neurosci.* 28, 145–151.
- Aschoff, J., Fatranská, M., Giedke, H., Doerr, P., Stamm, D., Wisser, H. (1971). Human circadian rhythms in continuous darkness. *Am. Assoc. Adv. Sci. Stable* 171, 213–215.
- Aton, S.J., Colwell, C.S., Harmar, A.J., Waschek, J., Herzog, E.D. (2005). Vasoactive intestinal polypeptide mediates circadian rhythmicity and synchrony in mammalian clock neurons. *Nat. Neurosci.* 8, 476–483.
- Balsalobre, A., Marcacci, L., Schibler, U. (2000). Multiple signaling pathways elicit circadian gene expression in cultured Rat-1 fibroblasts. *Curr. Biol.* 10, 1291–1294.
- Berson, D.M., Dunn, F.A., Takao, M. (2002). Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock. *Science* 295, 1070–1074.
- Bhardwaj, S.K., Stojkovic, K., Kiessling, S., Srivastava, L.K., Cermakian, N. (2015). Constant light uncovers behavioral effects of a mutation in the schizophrenia risk gene *Dtnbp1* in

- mice. *Behav. Brain Res.* 284, 58–68.
- Brown, T.M., Colwell, C.S., Waschek, J.A., Piggins, H.D. (2006). Disrupted neuronal activity rhythms in the suprachiasmatic nuclei of vasoactive intestinal polypeptide-deficient mice. *J. Neurophysiol.* 97, 2553–2558.
- Busino, L., Bassermann, F., Maiolica, A., Lee, C., Nolan, P.M., Godinho, S.I.H., Draetta, G.F., Pagano, M. (2007). SCFFbx13 controls the oscillation of the circadian clock by directing the degradation of cryptochrome proteins. *Science* 316, 900–905.
- Cailotto, C., Lei, J., Van Der Vliet, J., Van Heijningen, C., Van Eden, C.G., Kalsbeek, A., Pevet, P., Buijs, R.M. (2009). Effects of nocturnal light on (Clock) gene expression in peripheral organs: A Role for the autonomic innervation of the liver. *PLoS One* 4, 1–12.
- Card, J.P., Moore, R.Y. (1989). Organization of lateral geniculate-hypothalamic connections in the rat. *J. Comp. Neurol.* 284, 135–147.
- Choi, H.J., Lee, C.J., Schroeder, A., Kim, Y.S., Hoon-Jung, S., Kim, J.S., Kim, D.Y., Son, E.J., Han, H.C., Hong, S.K., Colwell, C.S., Kim, Y.I. (2008). Excitatory actions of GABA in the suprachiasmatic nucleus. *J. Neurosci.* 28, 5450–5459.
- Clements, C.M., McNally, R.S., Conti, B.J., Mak, T.W., Ting, J.P.-Y. (2006). DJ-1, a cancer- and Parkinson's disease-associated protein, stabilizes the antioxidant transcriptional master regulator Nrf2. *PNAS* 103, 15091–15096.
- \*Cohrs, S. (2008). Sleep disturbances in patients with schizophrenia impact and effect of antipsychotics. *CNS Drugs* 22, 939–962.
- \*Coleman, M.P., Reiter, R.J. (1992). Breast Cancer, blindness and melatonin. *International Agency Res. Cancer* 28, 501–503.
- Colwell, C.S. (2000). Rhythmic coupling among cells in the suprachiasmatic nucleus. *J. Neurobiol.* 43, 379–388.
- Connell, M.J.O., Raleigh, J.M., Verkade, H.M., Nurse, P. (1997). Chk1 is a wee1 kinase in the G2 DNA damage checkpoint inhibiting cdc2 by Y15 phosphorylation. *EMBO J.* 16, 545–554.
- Coomans, C.P., van den Berg, S.A.A., Houben, T., Van Klinken, J.-B., Van Den Berg, R., Pronk, A.C.M., Havekes, L.M., Romijn, J.A., Van Dijk, K.W., Biermasz, N.R., Meijer, J.H. (2013). Detrimental effects of constant light exposure and high-fat diet on circadian

- energy metabolism and insulin sensitivity. *FASEB J.* 27, 1721–1732.
- Cos, S., Dolores, M., Martínez-Campa, C., González, A., Alonso-González, C., Sánchez-Barceló, E.J. (2006). Exposure to light-at-night increases the growth of DMBA-induced mammary adenocarcinomas in rats. *Cancer Lett.* 235, 266–271.
- David-Gray, Z.K., Janssen, J.W.H., Degrip, W.J., Nevo, E., Foster, R.G. (1998). Light detection in a ‘blind’ mammal. *Nat. Neurosci.* 1, 655–656.
- Davis, S., Mirick, D.K., Stevens, R.G. (2001). Night shift work, light at night, and risk of breast cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 93, 1557–1562.
- DeBruyne, J.P., Noton, E., Lambert, C.M., Maywood, E.S., Weaver, D.R., Reppert, S.M. (2006). A Clock shock: Mouse CLOCK is not required for circadian oscillator function. *Neuron* 50, 465–477.
- Ding, J.M., Faiman, L.E., Hurst, W.J., Kuriashkina, L.R., Gillette, M.U. (1997). Resetting the biological clock: Mediation of nocturnal CREB phosphorylation via light, glutamate, and nitric oxide. *J. Neurosci.* 17, 667–675.
- Drew, J.E., Barrett, P., Mercer, J.G., Moar, K.M., Canet, E., Delagrangé, P., Morgan, P.J. (2001). Localization of the melatonin-related receptor in the rodent brain and peripheral tissues. *J. Neuroendocrinol.* 13, 453–458.
- Ebisawa, T., Karne, S., Lerner, M.R., Reppert, S.M. (1994). Expression cloning of a high-affinity melatonin receptor from *Xenopus* dermal melanophores. *PNAS* 91, 6133–6137.
- El-Bakry, H.A., Ismail, I.A., Soliman, S.S. (2018). Immunosenescence-like state is accelerated by constant light exposure and counteracted by melatonin or turmeric administration through DJ-1/Nrf2 and P53/Bax pathways. *J. Photochem. Photobiol.* 186, 69–80.
- Farajnia, S., van Westering, T.L.E., Meijer, J.H., Michel, S. (2014). Seasonal induction of GABAergic excitation in the central mammalian clock. *PNAS* 111, 9627–9632.
- Follett, B.K., Milette, J.J. (1982). Photoperiodism in quail: testicular growth and maintenance under skeleton photoperiods. *J. Endocrinol.* 93, 83–90.
- Gamble, K.L., Allen, G.C., Zhou, T., McMahon, D.G. (2007). Gastrin-releasing peptide mediates light-like resetting of the suprachiasmatic nucleus circadian pacemaker through cAMP response element-binding protein and Per1 activation. *J. Neurosci.* 27, 12078–12087.



- Gekakis, N., Staknis, D., Nguyen, H.B., Davis, F.C., Wilsbacher, L.D., King, D.P., Takahashi, J.S., Weitz, C.J. (1998). Role of the CLOCK protein in the mammalian circadian mechanism. *Am. Assoc. Adv. Sci.* 280, 1564–1569.
- Gery, S., Komatsu, N., Baldjyan, L., Yu, A., Koo, D., Koeffler, H.P. (2006). The circadian gene *Per1* plays an important role in cell growth and DNA damage control in human cancer cells. *Mol. Cell* 22, 375–382.
- \*Golombek, D.A., Rosenstein, R.E. (2010). Physiology of Circadian Entrainment. *Physiol. Rev.* 90, 1063–1102.
- Guerrero-Vargas, N.N., Navarro-Espíndola, R., Guzmán-Ruíz, M.A., del Carmen Basualdo, M., Espitia-Bautista, E., López-Bago, A., Lascurain, R., Córdoba-Manilla, C., Buijs, R.M., Escobar, C. (2017). Circadian disruption promotes tumor growth by anabolic host metabolism; experimental evidence in a rat model. *BMC Cancer* 17, 1–13.
- Guillaumond, F., Dardente, H., Giguère, V., Cermakian, N. (2005). Differential control of *Bmal1* circadian transcription by REV-ERB and ROR nuclear receptors. *J. Biol. Rhythms* 20, 391–403.
- \*Hakim, F.T., Flomerfelt, F.A., Boyiadzis, M., Gress, R.E. (2004). Aging, immunity and cancer. *Curr. Opin. Immunol.* 16, 151–156.
- Hamada, T., Yamanouchi, S., Watanabe, A., Shibata, S., Watanabe, S. (1999). Involvement of glutamate release in substance P-induced phase delays of suprachiasmatic neuron activity rhythm in vitro. *Brain Res.* 836, 190–193.
- Hardin, P.E., Hall, J.C., Rosbash, M. (1990). Feedback of the *Drosophila* period gene production on circadian cycling of its messenger RNA levels. *J. Colloid Interface Sci.* 343, 536–540.
- Harding, H.P., Lazar, M.A. (1993). The orphan receptor Rev-ErbA alpha activates transcription via a novel response element. *Mol. Cell. Biol.* 13, 3113–3121.
- Hickman, A.B., Klein, D.C., Dyda, F. (1999). Melatonin biosynthesis: The structure of serotonin N-Acetyltransferase at 2.5 Å resolution suggests a catalytic mechanism. *Mol. Cell* 3, 23–32.
- Hybertson, B.M., Gao, B., Bose, S.K., McCord, J.M. (2011). Oxidative stress in health and disease: The therapeutic potential of Nrf2 activation. *Mol. Aspects Med.* 32, 234–246.

- Illnerová, H., Vaněček, J. (1984). Circadian rhythm in inducibility of rat pineal N-acetyltransferase after brief light pulses at night: control by a morning oscillator. *J. Comp. Physiol.* 154, 739–744.
- Jiang, Z.-G., Yang, Y.-Q., Allen, C.N. (1997). Tracer and electrical coupling of rat suprachiasmatic nucleus neurons. *Neuroscience* 77, 1059–1066.
- Kalsbeek, A., Garidou, M.-L., Palm, I.F., Van der Vliet, J., Simonneaux, V., Pévet, P., Buijs, R.M. (2000). Melatonin sees the light: blocking GABA-ergic transmission in the paraventricular nucleus induces daytime secretion of melatonin. *Eur. J. Neurosci.* 12, 3146–3154.
- Karasek, M., Karasek, E., Stepien, H. (1978). Effect of castration on the concentration of Adenosine 3', 5'-Monophosphate in the rat pineal organ. *J. Neural Transm.* 42, 145–149.
- Khan, Z.A., Labala, R.K., Yumnamcha, T., Devi, S.D., Mondal, G., Sanjita Devi, H., Rajiv, C., Bharali, R., Chattoraj, A. (2018). Artificial Light at Night (ALAN), an alarm to ovarian physiology: A study of possible chronodisruption on zebrafish (*Danio rerio*). *Sci. Total Environ.* 628, 1407–1421.
- Klein, D.C., Weller, J.L. (1970). Indole metabolism in the pineal gland: A circadian rhythm in N-Acetyltransferase. *Science* 169, 1093–1095.
- Konopka, R.J., Benzer, S. (1971). Clock mutants of *Drosophila melanogaster*. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 68, 2112–2116.
- \*Kowalska, E., Brown, S.A. (2007). Peripheral clocks: Keeping up with the master clock. Cold Spring Harb. *Symp. Quant. Biol.* 72, 301–305.
- Kume, K., Zylka, M.J., Sriram, S., Shearman, L.P., Weaver, D.R., Jin, X., Maywood, E.S., Hastings, M.H., Reppert, S.M. (1999). mCRY1 and mCRY2 are essential components of the negative limb of the circadian clock feedback loop. *Cell Press* 98, 193–205.
- Leon-Blanco, M.M., Guerrero, J.M., Reiter, R.J., Calvo, J.R., Pozo, D. (2003). Melatonin inhibits telomerase activity in the MCF-7 tumor cell line both in vivo and in vitro. *J. Pineal Res.* 35, 204–211.
- Lockhart, P.J., Lincoln, S., Hulihan, M., Kachergus, J., Wilkes, K., Bisceglia, G., Mash, D.C., Farrer, M.J. (2004). DJ-1 mutations are a rare cause of recessively inherited early onset parkinsonism mediated by loss of protein function. *J. Med. Genet.* 41, 1–6.

- Lockley, S.W., Skene, D.J., Arendt, J., Tabandeh, H., Bird, A.C., DeFrance, R. (1997). Relationship between melatonin rhythms and visual loss in the blind. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82, 3763–3770.
- Long, M.A., Jutras, M.J., Connors, B.W., Burwell, R.D. (2005). Electrical synapses coordinate activity in the suprachiasmatic nucleus. *Nat. Neurosci.* 8, 61–66.
- Maywood, E.S., Chesham, J.E., O'Brien, J., Hastings, M.H. (2011). A diversity of paracrine signals sustains molecular circadian cycling in suprachiasmatic nucleus circuits. *PNAS* 108, 14306–14311.
- Maywood, E.S., Reddy, A.B., Wong, G.K.Y., O'Neill, J.S., O'Brien, J.A., McMahon, D.G., Harmar, A.J., Okamura, H., Hastings, M.H. (2006). Synchronization and maintenance of timekeeping in suprachiasmatic circadian clock cells by neuropeptidergic signaling. *Curr. Biol.* 16, 599–605.
- Molis, T.M., Spriggs, L.L., Hill, S.M. (1994). Modulation of estrogen receptor mRNA expression by melatonin in MCF-7 human breast cancer cells. *Mol. Endocrinol.* 8, 1681–1690.
- \*Moore, R.Y. (1996). Entrainment pathways and the functional organization of the circadian system. *Prog. Brain Res.* 111, 103–119.
- Moore, R.Y., Eichler, V.B. (1972). Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Res.* 42, 201–206.
- Morikawa, Y., Nakagawa, H., Miura, K., Soyama, Y., Kido, T., Naruse, Y., Suwazono, Y., Nogawa, K. (2005). Shift work and the risk of diabetes mellitus among Japanese male factory workers. *Scand. J. Work Env. Heal.* 31, 179–183.
- Mukherji, A., Kobiita, A., Chambon, P. (2015). Shifting the feeding of mice to the rest phase creates metabolic alterations, which, on their own, shift the peripheral circadian clocks by 12 hours. *PNAS* 112, 1–8.
- Nishino, H., Koizumi, K., Brooks, C.M.C. (1976). The role of suprachiasmatic nuclei of the hypothalamus in the production of circadian rhythm. *Brain Res.* 112, 45–59.
- Ohta, H., Yamazaki, S., McMahon, D.G. (2005). Constant light desynchronizes mammalian clock neurons. *Br. Commun.* 8, 267–269.
- Pan, A., Schernhammer, E.S., Sun, Q., Hu, F.B. (2011). Rotating night shift work and risk of

- type 2 diabetes: Two prospective cohort studies in women. *PLoS Med.* 8, 1–8.
- Pfeuty, B., Mato, G., Golomb, D., Hansel, D. (2003). Electrical synapses and synchrony: the role of intrinsic currents. *J. Neurosci.* 23, 6280–6294.
- Pikarsky, E., Porat, R.M., Stein, I., Abramovitch, R., Amit, S., Kasem, S., Gutkovich-Pyest, E., Urieli-Schoval, S., Galun, E., Ben-Neriah, Y. (2004). NF- $\kappa$ B functions as a tumour promoter in inflammation-associated cancer. *Nature* 431, 461–466.
- Pitrosky, B., Kirsch, R., Malan, A., Mocaer, E., Pevet, P. (1999). Organization of rat circadian rhythms during daily infusion of melatonin or S20098, a melatonin agonist. *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.* 277, 812–828.
- Pittendrigh, C.S. (1960). Circadian rhythms and the circadian organization of living systems. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 25, 159–184.
- Pittendrigh, C.S. (1981). Circadian systems: Entrainment. *Handb. Behav. Neurobiol.* 4, 95–124.
- Pittendrigh, C.S., Daan, S. (1976). A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. *J. Comp. Physiol.* 106, 291–331.
- Provencio, I., Rodriguez, I.R., Jiang, G., Pär Hayes, W., Moreira, E.F., Rollag, M.D. (2000). A novel human opsin in the inner retina. *J. Neurosci.* 20, 600–605.
- \*Ralph, M.R., Foster, R.G., Davis, F.C., Menaker, M. (1990). Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. *Science* 247, 975–978.
- Ralph, M.R., Menaker, M. (1988). A mutation of the circadian system in golden hamster. *Science* 241, 1225–1227.
- \*Reiter, R.J. (1980). The pineal and its hormones in the control of reproduction in mammals. *Endocr. Rev.* 1, 109–131.
- Reppert, S.M. (1997). Melatonin receptors: Molecular biology of a new family of G protein-coupled receptors. *J. Biol. Rhythms* 12, 528–531.
- Reppert, S.M., Weaver, D.R. (2001). Molecular analysis of mammalian circadian rhythms. *Annu. Rev. Physiol.* 63, 647–676.
- Reppert, S.M., Weaver, D.R., Rivkees, S.A., Stopa, E.G. (1988). Putative melatonin receptors in a human biological clock. *Science* 242, 78–81.
- Rose, D.P., Noonan, J.J. (1982). Influence of prolactin and growth hormone on rat mammary

- tumors induced by N-nitrosomethylurea. *Cancer Res.* 42, 35–38.
- Rusak, B. (1977). The role of the suprachiasmatic nuclei in the generation of circadian rhythms in the golden hamster, *Mesocricetus auratus*. *J. Comp. Physiol.* 118, 145–164.
- Segal, K.R., Landt, M., Klein, S. (1996). Relationship between insulin sensitive and plasma leptin concentration in lean and obese men. *Diabetes* 45, 988–991.
- Shintani, M., Ogawa, Y., Ebihara, K., Aizawa-Abe, M., Miyanaga, F., Takaya, K., Hayashi, T., Inoue, G., Hosoda, K., Kojima, M., Kangawa, K., Nakao, K. (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.
- Shirakawa, T., Honma, S., Katsuno, Y., Oguchi, H., Honma, K.I. (2000). Synchronization of circadian firing rhythms in cultured rat suprachiasmatic neurons. *Eur. J. Neurosci.* 12, 2833–2838.
- Singh, Y., Chen, H., Zhou, Y., Föller, M., Mak, T.W., Salker, M.S., Lang, F. (2015). Differential effect of DJ-1/PARK7 on development of natural and induced regulatory T cells. *Sci. Rep.* 5, 1–14.
- Stevens, R.G., Rea, M.S. (2001). Light in the built environment: potential role of circadian disruption in endocrine disruption and breast cancer. *Cancer Causes Control* 12, 279–287.
- Straub, R.E., Jiang, Y., MacLean, C.J., Ma, Y., Webb, B.T., Myakishev, M. V, Harris-Kerr, C., Wormley, B., Sadek, H., Kadambi, B., Cesare, A.J., Gibberman, A., Wang, X., O'Neill, F.A., Walsh, D., Kendler, K.S. (2002). Genetic variation in the 6p22.3 gene DTNBP1, the human ortholog of the mouse dysbindin gene, is associated with Schizophrenia. *Am. Soc. Hum. Genet.* 71, 337–348.
- Sudo, M., Sasahara, K., Moriya, T., Akiyama, M., Hamada, T., Shibata, S. (2003). Constant light housing attenuates circadian rhythms of the mPer2 mRNA and mPER2 protein expression in the suprachiasmatic nucleus of mice. *Neuroscience* 121, 493–499.
- Sumova, A., Maywood, E.S., Selvage, D., Ebling, F.J.P., Hastings, M.H. (1996). Serotonergic antagonists impair arousal-induced phase shifts of the circadian system of the Syrian hamster. *Brain Res.* 709, 88–96.
- Takano, A., Shimizu, K., Kani, S., Buijs, R.M., Okada, M., Nagai, K. (2000). Cloning and characterization of rat casein kinase 1epsilon. *FEBS Lett.* 477, 106–112.

- Trávníčková-Bendová, Z., Cermakian, N., Reppert, S.M., Sassone-Corsi, P. (2002). Bimodal regulation of mPeriod promoters by CREB-dependent signaling and CLOCK/BMAL1 activity. *PNAS* 99, 7728–7733.
- Ungvari, Z., Bailey-Downs, L., Sosnowska, D., Gautam, T., Koncz, P., Losonczy, G., Ballabh, P., De Cabo, R., Sonntag, W.E., Csiszar, A. (2011). Vascular oxidative stress in aging: a homeostatic failure due to dysregulation of NRF2-mediated antioxidant response. *Am J Physiol Hear.* 301, 363–372.
- Van den Pol, A.N., Dudek, F.E. (1993). Cellular communication in the circadian clock, the suprachiasmatic nucleus. *Neuroscience* 56, 793–811.
- Van Der Horst, G.T.J., Muijtjens, M., Kobayashi, K., Takano, R., Kanno, S., Takao, M., De Wit, J., Verkerk, A., Eker, A.P.M., Van Leenen, D., Buijs, R., Bootsma, D., Hoeijmakers, J.H.J., Yasui, A. (1999). Mammalian Cry1 and Cry2 are essential for maintenance of circadian rhythms. *Macmillan Mag. Ltd* 398, 627–630.
- \*Vaněček, J., Pavlík, A., Illnerová, H. (1987). Hypothalamic melatonin receptor sites revealed by autoradiography. *Brain Res.* 435, 359–362.
- Vaticon, M.D., Fernandez-Galaz, C., Esquifino, A., Tejero, A., Aquilar, E. (1980). Effects of constant light on prolactin secretion in adult female rats. *Horm. Res.* 12, 277–288.
- Wolden-Hanson, T., Mitton, D.R., McCants, R.L., Yellon, S.M., Wilkinson, C.W., Matsumoto, A.M., Rasmussen, D.D. (2000). Daily melatonin administration to middle-aged male rats suppresses body weight, intraabdominal adiposity, and plasma leptin and insulin independent of food intake and total body fat. *Endocrinology* 141, 487–497.
- Wulff, K., Dijk, D.-J., Middleton, B., Foster, R.G., Joyce, E.M. (2012). Sleep and circadian rhythm disruption in schizophrenia. *Br. J. Psychiatry* 200, 308–316.
- Yamazaki, S., Numano, R., Abe, M., Hida, A., Ri-ichi, T., Ueda, M., Block, G.D., Sakaki, Y., Menaker, M., Tei, H. (2000). Resetting central and peripheral circadian oscillators in transgenic rats. *Science* 288, 682–685.
- Ye, R., Selby, C.P., Chiou, Y.Y., Ozkan-Dagliyan, I., Gaddameedhi, S., Sancar, A. (2014). Dual modes of CLOCK:BMAL1 inhibition mediated by Cryptochrome and period proteins in the mammalian circadian clock. *Genes Dev.* 28, 1989–1998.
- You, S., Wood, P.A., Xiong, Y., Kobayashi, M., Du-Quiton, J., Hrushesky, W.J.M. (2005). Daily coordination of cancer growth and circadian clock gene expression. *Breast Cancer*

*Res. Treat.* 91, 47–60.

Zucker, I., Friedrich, K.S. (1972). Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity of rats are eliminated by hypothalamic lesions. *PNAS* 69, 1583–1586.

\* souhrnná práce