

Monika Dmitrzak-Węglarz, Joanna Pawlak

Zakład Genetyki w Psychiatrii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

# Geny centralnego zegara biologicznego w zaburzeniach afektywnych jedno- i dwubiegunowych

## CLOCK genes associated with the pathogenesis of unipolar and bipolar affective disorders

### Abstract

Biological rhythms are cyclic changes of physiologic processes and behavioral activity. Among biological rhythms the circadian rhythm is basic for adaptation of internal processes to external condition of environment. Disturbances of circadian system are present in many diseases, causing disturbances of biological cyclic processes. Biological rhythms changes are essential symptom of affective disorders (among depressed/elevated mood, decreased/increased activity, fear/irritability). Disturbances of circadian rhythm may be intensive and diverse. We may observe changes of intensity of depressed mood during a day (worsening in the morning and partial getting better in the evening). Till today several genes has been described to be important in pathogenesis of mood disorders. There are 21 identified clock genes. In mammalian, and in human too, most important are genes: PER1, PER2, PER3 and CRY1, CRY2. Studies indicate, that changes in physiological cyclic processes and psychopathological symptoms arise as a result of changes in these genes. One can suppose that bipolar and unipolar disease may be associated with disturbances of circadian clock, at least in some patients. That's why investigators that look for genetic association of mental disorders indicate candidate genes in clock system. This issue considers with association studies of clock genes in unipolar and bipolar disease.

*Psychiatria* 2010; 7, 4: 151–160

**key words:** unipolar and bipolar disorders, circadian rhythm, gene, circadian genes, polymorphism

### Wstęp

Zaburzenia afektywne dwubiegunowe dotyczą około 1–5% populacji generalnej [1]. Wielu badaczy wskazuje na dysfunkcję rytmów okołodobowych w psychopatologii chorób afektywnych na trzech płaszczynach. Pacjenci bardzo często mają objawy występujące zależnie od rytmu biologicznego, takie jak wahania nastroju w ciągu dnia czy okresowe stany nasilenia lub remisji objawów choroby zgodne z porami roku. Do częściej występujących objawów

związanych z zaburzeniem rytmów biologicznych należy zaliczyć zaburzenia snu, takie jak obniżona potrzeba snu w manii oraz bezsenność czy niemożność snu w depresji. Zaburzenia snu w przebiegu chorób afektywnych są rozpatrywane od dawna jako wynik zaburzeń rytmu okołodobowego [2]. Z rytmem okołodobowym w szczególności wiąże się zmianę czasu zasypiania, zmiany ilości snu oraz nieprawidłowości funkcjonowania społecznego, związane z zaburzeniami synchronizatorów czasu (*zeitgebers*) w cyklu światło–ciemność. Wielu badaczy twierdzi, że zaburzenia snu są przyczyną lub też czynnikiem wyzwalającym zaburzenia nastroju, przy czym wskazują również na to, że proces ten może przebiegać dwukierunkowo (to znaczy zaburzenia emocjonalne

### Adres do korespondencji:

dr n. med. Monika Dmitrzak-Węglarz  
Zakład Genetyki w Psychiatrii Katedry Psychiatrii UM  
w Poznaniu  
ul. Szpitalna 27/33, 61–572 Poznań  
tel.: (61) 849 13 11, faks: (61) 848 03 92  
e-mail: mweglarz@amp.edu.pl

mogą skutkować zaburzeniami snu). Drugą ważną poszlaką sygnalizującą znaczenie rytmu okołodobowego w etiologii chorób afektywnych są wyniki badań farmakologicznych. Najlepszym przykładem jest działanie soli litu, jako stabilizatora nastroju, który, będąc inhibitorem kinazy syntazy glikogenu (*GSK3-β*, *glycogen synthase kinase 3-β*), powoduje opóźnienie rytmu okołodobowego u pacjentów z chorobą afektywną dwubiegunową (ChAD). Inhibitor kinazy syntazy glikogenu reguluje działanie licznych białek rytmu okołodobowego i dlatego wskazuje się go jako nowy cel farmakoterapeutyczny w leczeniu zaburzeń nastroju [3]. Trzecim istotnym elementem świadczącym o udziale zaburzeń rytmu okołodobowego w etiologii chorób afektywnych są wyniki badań asocjacyjnych oraz zmian w ekspresji genów zegarowych [4]. To uzasadnia poszukiwania genów kandydujących odpowiedzialnych za symptomy zaburzeń nastroju wśród genów molekularnego zegara komórkowego.

#### Zaburzenia rytmów okołodobowych w przebiegu zaburzeń afektywnych

Rytmy biologiczne to cykliczne zmiany procesów fizjologicznych i aktywności behawioralnej. Spośród kilku rodzajów rytmów biologicznych rytm okołodobowy pełni rolę podstawowego regulatora pozwalającego przystosować liczne procesy wewnętrzne do zewnętrznych czynników środowiska. U ssaków funkcję centralnego oscylatora spełniają parzyste jądra nadskrzyżowaniowe (SCN, *suprachiasmatic nucleus*) mieszczące się w podwzgórzu, wykazujące spontanicznie rytmiczną aktywność elektryczną. Zaburzenia działania układu okołodobowego, których konsekwencją są zakłócenia rytmów biologicznych, towarzyszą wielu chorobom. Przejawiają się one jako nieprawidłowości w rytmicznym wydzielaniu hormonów (prolaktyny, ACTH [*adrenocorticotropic hormone*], kortyzolu, GH [*growth hormone*], TSH [*thyroid stimulating hormone*], melatoniny), zmianach temperatury ciała czy wydalaniu metabolitów z moczem [5, 6]. Postacią zaburzeń rytmów biologicznych najłatwiej dostępną obserwacji klinicznej jest rytm snu i aktywności. Wykazuje on zaburzenia w postaci bezsenności (rzadziej nadmiernej senności) pierwotnej lub wtórnej w przebiegu chorób psychicznych, somatycznych oraz pod wpływem substancji psychoaktywnych. W jednym z najwcześniejszych badań epidemiologicznych dotyczących bezsenności pytano pełnoletnie osoby o następujące objawy: trudności w zasypianiu, zaburzony sen bądź przedwczesne budzenie się rano. Na tej podstawie częstość występo-

wania symptomów bezsenności oszacowano na 32,2% populacji [7]. W definicji bezsenności uwzględniono następnie jej skutki w ciągu dnia (na przykład senność, drażliwość, pogorszenie funkcji poznawczych) oraz nasilenie objawów. W badaniach, w których stawiano wymóg występowania objawów przez co najmniej 3 noce w tygodniu, częstość bezsenności w populacji ogólnej określono na 16–21%. Zaobserwowano ścisły związek między bezsennością i depresją. Osoby z bezsennością są bardziej narażone na wystąpienie depresji (objawy depresji występują u 40–60% osób z bezsennością, a kliniczna postać depresji występuje u 10–25%). Natomiast w 80% przypadków depresji pojawia się także bezsenność [8]. Zaburzenia snu mogą wynikać z procesu chorobowego, a jednocześnie pogarszający się stan emocjonalny pacjenta może przyczynić się do ich nasilenia. U chorych na depresję przeprowadzono liczne badania wykorzystujące polisomnografię. Wynika z nich jednoznacznie, że zaburzenia snu w zaburzeniach nastroju mają nie tylko charakter ilościowy, ale również jakościowy. Ponadto zmiany w zapisie polisomnograficznym mogą poprzedzać kliniczne objawy [9] i mieć znaczenie predykcyjne w odniesieniu do nawrotów depresji [10]. Zaburzenia rytmów biologicznych są jedną z czterech filarowych kategorii objawów zaburzeń nastroju (obok podwyższenia/obniżenia nastroju, napędu, objawów lęku/drażliwości). Nieprawidłowości rytmu okołodobowego wykazują zróżnicowaną postać i mogą być znacznie nasilone. W stanach maniakalnych pacjenci odczuwają zmniejszoną potrzebę snu, nieadekwatną do podejmowanej w ciągu doby aktywności; wobec wzmożonego napędu i kreatywności traktują sen jako stratę czasu. W depresji w przebiegu ChAD opisano podtyp z hipersomnią oraz podtyp z bezsennością. Cechy składowe bezsenności, typowe dla depresji melancholicznej, przedstawiono wcześniej. Obraz komplikują powiązania zaburzeń snu z zaburzeniami funkcji poznawczych (toku myślenia, koncentracji uwagi), z drażliwością w relacjach interpersonalnych, zaburzeniami metabolicznymi czy obniżoną odpornością. Rytm dobowy wiąże się też z wahaniami głębokości zaburzeń nastroju (typowe jest poranne pogorszenie nastroju i jego wieczorna częściowa poprawa) [11].

Powyższe dane wskazują na rolę rytmów biologicznych w psychopatologii, przywracaniu stanu fizjologicznego oraz prawdopodobnie w etiopatogenezie zaburzeń nastroju. Dlatego podjęto próby interwencji chronoterapeutycznych. Fototerapia jest niefarmakologiczną metodą leczenia polegającą na ekspozycji

cji na światło o natężeniu 2500–10 000 luksów. Początkowo stosowano ją w depresji sezonowej, gdzie okazała się skuteczną [12, 13]. Prócz typowego rytmu obniżenia nastroju w okresach jesienno-zimowych i poprawy lub przejścia w stan hipomaniaikalny w sezonie wiosenno-letnim, ten typ zaburzeń afektywnych charakteryzuje się wzmożeniem apetytu, zwłaszcza na pokarmy wysokowęglowodanowe, wzrostem masy ciała i hipersomnią [14]. Obecnie fototerapię stosuje się również w depresji niesezonowej, jako metodę wspomagającą, w depresji przed- i poporodowej oraz w innych grupach chorych, u których farmakoterapia jest przeciwwskazana. Główne objawy niepożądane fototerapii to przemęczenie oczu, bóle głowy, nudności, pobudzenie i bezsenność [14]. Inną metodą interwencji w rytm okołodobowy w celach terapeutycznych jest przyspieszenie fazy rytmu sen–czuwanie oraz deprywacja snu. Metody te są często stosowane łącznie z farmakoterapią. W przypadku pełnej deprywacji snu pacjent nie śpi przez około 40 godzin [15]. Częściowa deprywacja snu obejmuje drugą połowę snu nocnego. Poprawa nastroju po deprywacji snu następuje zazwyczaj szybciej niż po stosowaniu terapeutycznych dawek leków przeciwdepresyjnych (w ciągu godzin lub kilku dni), jednak niestety odwracalna [16, 17]. Podejmowano próby stosowania melatoniny i jej analogów w leczeniu depresji. Aktualnie w Polsce jest zarejestrowana agomelatyna do stosowania w dawce dobowej 25–50 mg. Bada się wpływ różnych leków przeciwdepresyjnych na parametry snu [18]. Wśród metod wspomagających farmakoterapię stosuje się interpersonalną terapię rytmów społecznych (IPSRT, *interpersonal social rhythm therapy*), jako pochodnych rytmu snu i czuwania. Interwencja ta została opracowana przez Franka i wsp. [19] i wykazała jej skuteczność w zmniejszaniu ryzyka nawrotów. W ciągu miesięcznej obserwacji bada się charakterystykę rytmu aktywności pacjenta, identyfikuje obszary jej niestabilności i wyznacza cele stabilizacji. Następnie wprowadza się psychobehawioralne strategie przywracające i ochraniające regularność trybu życia chorego. Interpersonalna terapia rytmów społecznych jest najszerszej stosowana w ChAD. Odtworzenie prawidłowego rytmu snu i czuwania jest uważane za bardzo ważny cel terapeutyczny. Należy także podkreślić, że utrzymywanie się zaburzeń rytmów okołodobowych może decydować o nieuzyskaniu pełnych remisji w przebiegu ChAD. Przedstawione implikacje kliniczne pozwalają sądzić, że istnieje grupa pacjentów z zaburzeniami afektywnymi zarówno jedno-, jak i dwubiegunowymi, u któ-

rych choroba jest związana z zaburzeniami funkcjonowania układu okołodobowego. Postęp w zrozumieniu molekularnych podstaw rytmicznego przebiegu procesów i funkcjonowania zegara biologicznego dokonał się dzięki sukcesom biologii molekularnej. Doprowadziły one do identyfikacji tak zwanych genów zegarowych, odsłoniły niektóre tajniki regulacji ich ekspresji i pozwoliły zidentyfikować produkty tych genów oraz ich wzajemne oddziaływanie. Obecnie znanych jest 21 genów, wraz z ich produktami białkowymi, tworzącymi komórkowy centralny zegar biologiczny. Jak dotąd jest niewiele prac badających przekrojowo związek polimorfizmów genów zegarowych w chorobach psychicznych.

### Podłoże genetyczne

Model dziedziczenia zaburzeń afektywnych jest złożony, związany z interakcją wielu genów i czynników środowiskowych. W przypadku zaburzeń afektywnych dwubiegunowych typu I zachorowalność szacuje się na poziomie około 1% populacji ogólnej [1], natomiast w przypadku depresji zachorowalność sięga 17% populacji. W badaniach bliźniąt odziedziczalność oszacowano między 80–90% w przypadku ChAD oraz między 33–44% dla choroby afektywnej jednobiegunowej (ChA) [20]. Obraz kliniczny zaburzeń afektywnych jest heterogenny, dlatego w badaniach molekularnych szczegółowo analizuje się obraz i przebieg kliniczny choroby z uwzględnieniem na przykład podtypów klinicznych depresji, preferencji aktywności dobowej i oceny zaburzeń snu.

W badaniach bliźniąt populacji fińskiej oszacowano odziedziczalność chronotypu na 49,7%. Pozostałe elementy warunkujące chronotyp należały do czynników środowiskowych niepodzielanych przez drugie z pary bliźniąt. Wśród testowanych modeli dziedziczenia najlepiej opisywał obserwowaną zmienność cech model ADE (A — *additive genetic component*, D — *genetic effects of dominance*, E — *non-shared environmental components*) [21]. W całej badanej populacji typ poranny przeważał licznie nad typem wieczornym (odpowiednio 29,4% i 9,9% w badaniu Koskenvuo i wsp., 49,8% i 5,6% w badaniu Paine i wsp.). W młodszych grupach wiekowych przewaga typu porannego jest mniejsza niż w starszych [21, 22]. Uważa się, że dzieci są zazwyczaj bardziej poranne, wykazują tendencję do opóźniania okresu snu w miarę dorastania, osiągając maksimum wieczorności około 20. roku życia. Kobiety osiągają ten szczyt nieco wcześniej niż mężczyźni [23]. Ponadto zaobserwowano tendencję, zgodnie z którą badani wykazują większą poranność w późniejszym okresie dorost-

ści (typowo po 50. roku życia). Częściowy brak zależności chronotypu od czynników socjoekonomicznych i związek z czynnikami endogennymi [22] wspiera hipotezę o wpływie zaburzeń rytmów okołodobowych na patogenezę ChAD [24]. Zasadność posługiwania się chronotypem wynika z udowodnionych różnic między chronotypami na poziomie fizjologicznym. Najlepiej udokumentowaną różnicą między osobami preferującymi aktywność poranną lub wieczorną jest wskaźnik temperatury ciała. Typy poranne osiągają szczyt temperatury ciała w godzinach popołudniowych, podczas gdy typy wieczorne szczyt ten osiągają później. Taki sam rozkład dotyczy rytmu częstości akcji serca. Stwierdzono również występowanie wyższego przewodnictwa elektrycznego skóry (wskaźnika pobudzenia) w godzinach porannych u osób o chronotypie porannym i w godzinach popołudniowych u osób o chronotypie wieczornym. Rodzaj chronotypu jest również związany z rytmem wydzielania hormonów takich jak melatonina (typ poranny osiąga maksymalne stężenie wcześniej niż typ wieczorny) [25], kortyzol (typ poranny osiąga wyższe niż typ wieczorny stężenie kortyzolu w pierwszej godzinie po przebudzeniu) [26]. Udowodniono również, że w rytmie okołodobowym wydzielane są: hormony tarczycy i TSH, GH i prolaktyna.

#### Geny zaangażowane w generowanie rytmu

Za utrzymanie rytmu okołodobowego na poziomie subkomórkowym odpowiada grupa genów określanych mianem *CLOCK genes*. Dotychczas zidentyfikowano 21 genów zegarowych [27], których produkty białkowe tworzą szlaki i wzajemne powiązania. Można je prześledzić w bazach danych, takich jak *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) oraz *Protein Analysis Through Evolutionary Relationship* (PANTHER). Mechanizmy kontrolujące ich ekspresję wykorzystują zdolność białkowych produktów genów do pobudzania lub hamowania transkrypcji genów zegarowych na zasadzie pętli sprzężenia zwrotnego. U ssaków, w tym i człowieka, podstawowe geny zegarowe to trzy geny *period* — *PER1*, *PER2*, *PER3* — oraz dwa kryptochromy *CRY1* i *CRY2*. Geny te są cyklicznie aktywowane za pośrednictwem sekwencji enhancerowej E-box (CACGTG), do której wiąże się heterodimer białek *CLOCK/BMAL1*, indukując ich transkrypcję. Po osiągnięciu przez gromadzące się w cytoplazmie białka *PER* i *CRY* odpowiednio wysokiego stężenia dochodzi do ich fosforylacji i transportu z cytoplazmy do jądra. W jądrze biorą one udział w powstawaniu heterodimerycznych ujemnych kompleksów transkrypcyjnych, w skład których

obok białek *period*, wchodzi kryptochromy oraz tak zwane białko *TIMLESS* (produkt genu *TIM*). Kompleksy te wiążą się z heterodimerami *CLOCK/BMAL1* i uniemożliwiają transkrypcję genów *PER* i *CRY*. W ten sposób dochodzi do zamknięcia pętli transkrypcyjno-translacyjnej. Ponadto dowiedziono, że geny receptorów jądrowych *Nr1d1* (*nuclear receptor subfamily 1, group d, member gene*) oraz *Rora* (*orphan nuclear receptor gene*) regulują rytmiczną transkrypcję *BMAL1*. Podobnie białka *DEC1* i *DEC2* (*deleted in esophageal cancer*) działają jako represory kompleksu *CLOCK/BMAL1* [28].

#### Wybrane geny zegarowe

##### Gen *CLOCK*

Gen zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 4 (4q12) zidentyfikowano dzięki chemicznej mutagenезie w 1971 roku. Sekwencja genu składa się ze 100 000 par zasad i jest podzielona na 24 eksony. Budowa ludzkiego genu *CLOCK* (*circadian locomotor output cycles kaput*) jest w 89% identyczna z mysim homologiem. Gen *CLOCK* koduje białko należące do rodziny czynników transkrypcyjnych typu helisa-pętla-helisa i stanowi kluczowy czynnik generujący endogeny rytm okołodobowy. Wszystkie badania dotyczące wyjaśnienia funkcji genu *CLOCK* pochodzą z badań na modelach zwierzęcych. Ustalono między innymi, że u myszy z homozygotyczną mutacją w obrębie genu *CLOCK* dochodzi do znacznego osłabienia dobowego rytmu przyjmowania pokarmu, czego wyrazem jest hiperfagia i otyłość. Konsekwencjami są również: rozwój zespołu metabolicznego, hiperleptynemia i hiperlipidemia, stłuszczenie wątroby, hiperglikemia i obniżone stężenie insuliny. Potwierdza to rolę genu *CLOCK* i innych genów zegarowych w regulacji homeostazy energetycznej. W tym względzie geny zegarowe mogą stanowić geny kandydujące w zaburzeniach jedzenia, a w szczególności w jadłowstręciu psychicznym. W badaniu myszy ze znokautowanym genem *CLOCK* stwierdzono wzrost aktywności podstawowej, wzrost wrażliwości na kokainę i związane z tym uczucie nagrody. Zostało to potwierdzone na poziomie molekularnym, ponieważ zaobserwowano podwyższone stężenie mRNA hydroksylazy tyrozyny (TH) z równocześnie podwyższonym poziomem fosforylacji TH. Wiąże się to bezpośrednio ze zwiększeniem aktywności układu dopaminergicznego w obszarze brzusznej części nakrywki śródmózgowia (VTA, *ventral tegmental area*) — obszaru kluczowego dla układu nagrody. Z badań przeprowadzonych w ostatnich dwóch latach

wynika, że uszkodzenia w obrębie genu *CLOCK* u myszy wywołują zespół zachowań przypominający objawy manii występujące w przebiegu ChAD, takie jak: nadpobudliwość, zmniejszenie ilości snu, depresja, obniżony poziom lęku oraz wzrost stymulacji układu nagrody przez kokainę. Ponadto wykazano, że długotrwałe podawanie myszom soli litu obniżyło poziom obserwowanych objawów do odpowiadającego remisji. U myszy z nokautem genu *CLOCK* potwierdzono wzrost aktywności układu dopaminergicznego w VTA. Bezpośrednie podanie genu *CLOCK* do obszaru VTA za pomocą iniekcji wirusowej powodowało normalizację aktywności układu dopaminergicznego, czego widocznym efektem było zmniejszenie objawów nadpobudliwości. Wyniki tych badań dowiodły, że gen *CLOCK* odgrywa istotną rolę poprzez układ dopaminergiczny w regulacji nastroju i zachowania [29].

#### **Wyniki badań asocjacyjnych genu *CLOCK***

Dotychczas najczęściej badanym polimorfizmem genu *CLOCK* był polimorfizm typu SNP (*single nucleotide polymorphism*) T3111C (rs1801260) zlokalizowany w regionie 3'UTR genu. Katzenberg i wsp. [30] wykazali związek polimorfizmu T3111C z preferencją aktywności porannej. Benedetti i wsp. [31] potwierdzili, że osoby z allelem C wykazują znacząco częstszą preferencję aktywności wieczornej, przesunięcie fazy i skrócenie czasu snu. Wyniki dotychczasowych badań wykazały związek wspomnianego polimorfizmu z większym stopniem nawrotowości ChAD, poprawą w zakresie bezsenności po leczeniu lekami przeciwdepresyjnymi oraz podejmowaniem decyzji przez pacjentów z depresją.

W badaniach przeprowadzonych w skali całego genomu (GWAS, *genome-wide association study*) wykazano związek polimorfizmu rs6832769 z jednym z wymiarów osobowości (allel A z ugodowością). W badaniach obejmujących analizę 6 taqSNP polimorfizmów genu *CLOCK* wykazano istotny związek polimorfizmu rs534654, rs6850524 oraz rs4340844 z ChAD. Wcześniej polimorfizm rs534654 został wytypowany w badaniach asocjacyjnych przeprowadzonych przez *Wellcome Trust Case Control Consortium* (2007) jako potencjalnie związany z ChAD. Wyniki badań opublikowane przez Shi i wsp. w 2008 roku wskazały na interakcję polimorfizmu rs534654 genu *CLOCK* z rs6442925 w genie *BHLHB2* i rs1534891 w genie *CSNK1E* w grupie pacjentów z ChAD [4]. Uzyskane wyniki świadczą o słabym wpływie każdego z polimorfizmów z osobna. Natomiast biologiczna interakcja białek kodowanych przez analizowane

geny potwierdza rolę rytmów okołodobowych w predyspozycji do ChAD. Wskazuje to również, że zaburzenia w rytmie okołodobowym są efektem nagromadzenia subtelnych zmian w genach zegarowych. Jednak najnowsze wyniki badań obejmujące analizę 10 polimorfizmów taqSNP genu *CLOCK* nie potwierdziły związku żadnego z analizowanych polimorfizmów z ChAD w populacji Amerykanów pochodzenia kaukaskiego [27, 32].

#### **Gen *ARNTL***

Gen *ARNTL* (*aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like*) znany również jako *BMAL1* lub *MOP3* koduje białko BMAL1, które, podobnie jak białko *CLOCK*, należy do rodziny czynników transkrypcyjnych typu helisa-pętla-helisa (bHLH) i stanowi kluczowy czynnik generujący endogenne rytmy okołodobowe. Ludzki gen zlokalizowano na krótkim ramieniu chromosomu 11 (11p15) dzięki technice fluorescencyjnej hybrydizacji *in situ* (FISH, *fluorescent in situ hybridization*) z wykorzystaniem homologicznej sekwencji genu myszy. Na matrycy genu *ARNTL* stwierdzono powstawanie trzech transkryptów, które warunkują powstanie dwóch izoform białkowych. Białko BMAL1 posiada charakterystyczną domenę PAS (Per-Arnt-Sim), która jest typowa dla wielu czynników transkrypcyjnych, wiążących DNA w obrębie sekwencji E-box (CACGTG). Białko BMAL1 współdziała z większością kluczowych genów zegarowych, takich jak: *CRY*, *TIMELESS* oraz *PER*. Wyniki badań funkcji genu na modelu zwierzęcym dowiodły, że utrata genu *ARNTL* u myszy powoduje natychmiastową i całkowitą utratę rytmu okołodobowego w warunkach stałego zaciemnienia. Nawet w prawidłowym, 24-godzinnym, cyklu światło-ciemność rytmy okołodobowe nie odzyskały prawidłowej rytmiki. Analiza ekspresji *ARNTL* w SCN wykazała, że obserwowany fenotyp wynika z utraty funkcji rytmu na poziomie molekularnym, co potwierdziło, że *ARNTL* jest niezbędnym elementem rytmu stymulatora u ssaków. W badaniach na modelach zwierzęcych udowodniono rolę BMAL1 w licznych procesach obwodowych związanych między innymi z długością życia i nasileniem procesów starzenia. U myszy z nokautem genu *ARNTL* patologiczne zmiany obserwowane w nerkach, sercu i śledzionie skorelowano ze wzrostem poziomu reaktywnych form tlenu (ROS, *reactive oxygen species*). Ten sam efekt obserwowano na liniach komórkowych z wyciszoną ekspresją tego genu za pomocą siRNA. Zwrócono również uwagę na to, że nokaut genu *ARNTL* warunkował u myszy zmniejszony poziom aktywności i niższą masę ciała oraz

zmniejszone stężenie limfocytów B w śledzionie, krwi i szpiku kostnym. Udowodniono również rolę BMAL1 w regulacji metabolizmu energetycznego — jednym z objawów zaburzeń rytmów okołodobowych są zaburzenia ciepłoty ciała. Wskazuje to na tkankowo specyficzną rolę BMAL1 w regulacji i integracji procesów fizjologicznych [33].

#### **Wyniki badań asocjacyjnych genu ARNTL**

Mimo że białko BMAL1 kodowane przez gen *ARNTL* jest jednym z kluczowych w centralnym zegarze rytmu okołodobowego, to badań asocjacyjnych polimorfizmów tego genu nie ma zbyt wiele. Spośród 10 taqSNP polimorfizmów genu *ARNTL* wykazano istotny związek z zaburzeniami afektywnymi dwubiegunowymi w analizie TDT tylko dwóch: rs7107287 i rs8956682. W klasycznej analizie asocjacji osób chorych w porównaniu z grupą kontrolną istotnie związane z ChAD I okazały się polimorfizmy: rs7107287, rs1481892, rs4757142 oraz 1982350 [32]. W badaniach replikacyjnych obejmujących analizę 22 polimorfizmów taqSNP Mansour i wsp. nie potwierdzili wcześniejszych wyników. Zaobserwowano natomiast trend wskazujący na związek innego polimorfizmu, zlokalizowanego w intronie, polegającego na substitucji A/G (rs7126303) z CHAD typu I [27].

#### **Gen TIMELESS (TIM)**

Gen *TIM* został zlokalizowany w regionie 12q12-q13. Kodowane białko TIMELESS (TIM) bierze udział w regulacji rytmu dobowego. Współdziała z produktami głównych genów zegara, takich jak *CLOCK*, *BMAL1*, *PER1*, *PER2* i *PER3*. Spadek ekspresji *TIM* powoduje spadek poziomu ekspresji wymienionych genów. Ekspresja *TIM* pozostaje pod kontrolą czynników środowiska, w tym cyklu dzień–noc. Ponadto białko TIM odgrywa ważną rolę w punktach kontrolnych cyklu komórkowego G2/M oraz S. Dzięki jego prawidłowej funkcji dochodzi do zatrzymania mitozy, co umożliwia naprawę DNA. W przypadku zbyt dużych uszkodzeń aktywuje proces apoptozy. Istnieje hipoteza, według której białko TIM jest łącznikiem między cyklem komórkowym i rytmem okołodobowym u ssaków. W modelu tym zakłada się istnienie białek o ekspresji według wzorca dobowego. Należy przy tym pamiętać, że w komórkach niepodlegających podziałom, takich jak neurony, komórki mięśnia sercowego czy wątroby, mimo braku cyklu komórkowego cykl okołodobowy działa prawidłowo. W badaniach na modelach zwierzęcych wykazano, że białko TIM uczestniczy również w regulacji spójności chromosomów. Uszkodzenie genu doprowadzało do

obumierania zarodków na skutek zaburzeń rozchodzenia się chromosomów homologicznych podczas podziału mitotycznego. Prawdopodobnie białko TIM wpływa na funkcjonowanie kompleksu kohezyjnego, który spaja ze sobą chromosomy homologiczne, umożliwiając im rekombinację. Niektórzy badacze uważają, że ta funkcja genu i białka TIM ma charakter pierwotny i konserwatywny w stosunku do funkcji w regulacji rytmu okołodobowego. W badaniach nad muszką owocówką (*Drosophila melanogaster*) wykazano, że interakcja TIM-CRY przedłuża żywotność CRY podlegającego degradacji pod wpływem ekspozycji na światło i tym samym wpływa na fotoczułość zegara biologicznego [34].

#### **Wyniki badań asocjacyjnych genu TIMELESS**

Dotychczas niewiele prac w zakresie badań asocjacyjnych w ChAD poświęcono genowi *TIM*. Zespół Mansour i wsp. [32] jako pierwszy wskazał na związek dwóch z czterech badanych polimorfizmów SNP w genie *TIM*. W badaniach nierównowagi transmisji alleli analizowanych metodą TDT wskazano na polimorfizmy rs2279665 oraz rs2291738 jako istotnie związane z ChAD. W klasycznej analizie asocjacji, w porównaniu rozkładu częstości alleli i genotypów między grupą pacjentów i osób zdrowych z grupy kontrolnej nie wykazano istotnych różnic. Natomiast w analizie haplotypów wszystkie cztery analizowane polimorfizmy tworzyły układ, który istotnie częściej ulegał transmisji od zdrowych rodziców do chorych dzieci z diagnozą ChAD. W badaniach replikacyjnych Shi i wsp. [4] wykazali związek rs2291738 i 10876890 z bezsennością występującą w przebiegu manii u pacjentów z ChAD oraz potwierdzili związek rs2279665 z ChAD I.

#### **Gen PER3**

Gen *PER3* (*period*), kodujący jedno z trzech białek period, został zlokalizowany na krótkim ramieniu chromosomu 1 (1p36.23). Gen składa się z 21 eksonów. Ulega ekspresji w SCN, generując rytm okołodobowy procesów fizjologicznych i behawioralnych. Gen *PER3* koduje białko będące czynnikiem transkrypcyjnym o charakterystycznej budowie bHLH z domeną PAS. Dowiedziono, że najwyższa ekspresja tego genu zachodzi w SCN oraz w narządzie wzroku, niemniej ekspresja zachodzi również w tkankach obwodowych. W odróżnieniu od genów *PER1* i *2*, w przypadku *PER3* ekspresja genu nie zależy od ekspozycji na światło. Co więcej, wyniki badań na modelu zwierzęcym wskazują, że uszkodzenie genu *PER3* przy prawidłowo funkcjonujących *PER1* i *2* nie zabu-

rza działania centralnego zegara rytmu okołodobowego u myszy, co wskazuje na drugorzędną rolę genu *PER3* w regulacji rytmu okołodobowego. Białko *PER3* tworzy heterodimery z *PER1* i *2* oraz *CRY1* i *2*. W tej postaci przedostaje się do jądra, gdzie reguluje transkrypcję *CLOCK/BMAL1*, wpływając w ten sposób na oscylację rytmu okołodobowego [35].

### Wyniki badań asocjacyjnych genu *PER3*

Spośród 14 przeanalizowanych do tej pory polimorfizmów SNP genu *PER3*, dwa wykazały istotny związek z ChAD I oraz schizofrenią i zaburzeniami schizofaktywnymi (rs10462021 oraz 2640909) [27]. Niemniej, jak wskazują autorzy, zastosowanie korekty dla testowania wielokrotnego sprawia, że uzyskane wyniki nie osiągają istotności statystycznej. Prawdopodobnie gen ten ma relatywnie niewielki wpływ i aby wykryć związek badanego polimorfizmu z chorobą, wymaga się analizy dużej grupy chorych. Intrygujący jest fakt uzyskania związku z różnymi zaburzeniami psychicznymi, co wydaje się potwierdzać hipotezę o ich częściowo wspólnym podłożu molekularnym. Kripke i wsp. [36] wykazali z kolei związek funkcjonalnego polimorfizmu, polegającego na substytucji C/G, powodującego zmianę aminokwasu Proliny w Alaninę w pozycji 2741 kodowanego białka (rs228697), z preferencją pory wieczornej. Benedetti i wsp. [37] analizowali polimorfizm VNTR (*variable number of tandem repeats*) (allele z cztero- lub pięciokrotnym powtórzeniem motywu 18 aminokwasów). Powtórzony motyw zawiera liczne potencjalne miejsca fosforylacji, co może wpływać bezpośrednio na funkcje białka. Udowodniono, że jest on związany z fenotypem ChAD. Pacjenci homozygotyczni posiadający 5 powtórzeń (5/5) znajdowali się w grupie o wcześniejszym początku zachorowania w porównaniu z pacjentami z pozostałymi genotypami. Wcześniejsze badania, w których wskazano, że gen *PER3* jest związany z zespołem opóźnionej fazy snu [38], preferencją wczesnej pory dnia u pacjentów z sezonowymi zaburzeniami afektywnymi [39] oraz zaburzeniami afektywnymi dwubiegunowymi [40], wskazują na celowość przeprowadzenia dalszych badań replikacyjnych.

### Gen *NR1D1*

Gen *NR1D1* (*nuclear receptor subfamily 1, group d, member 1*) jest zlokalizowany w regionie q17.2 chromosomu 17. Na matrycy genu *NR1D1*, dzięki transkrypcji zachodzącej w przeciwnych kierunkach, powstaje mRNA dwóch receptorów jądrowych *EAR1*

i *EAR7*. Transkrypt zawierający 3 eksony koduje białko *Rev-ERBA- $\alpha$*  (*EAR1*) zbudowane z 614 aminokwasów, należące do rodziny receptorów jądrowych, które pośredniczą w uruchomieniu transkrypcji pod wpływem odpowiednich cząsteczek sygnałowych. Białko *EAR1* pośredniczy w represji transkrypcji własnego promotora. Stanowi ono główny regulator cyklicznej transkrypcji *BMAL1*. Dobowa ekspresja genu *NR1D1* jest kontrolowana przez komponenty pętli sprzężenia zwrotnego. Regulacja transkrypcji *NR1D1* zachodzi, podobnie jak w przypadku genów *CRY*, poprzez sekwencję E-box. Białko *EAR1* stanowi molekularny łącznik między elementami pozytywnego i negatywnego sprzężenia zwrotnego molekularnego generatora rytmu okołodobowego. Wpływa na długość okresu i fazy rytmu okołodobowego, nie jest natomiast wymagane do generowania rytmu dobowego [41]. W modelu zwierzęcym wykazali, że transkrypcyjnemu rytmowi okołodobowemu *CLOCK/BMAL1* towarzyszy rytm acetylacji histonów H3, który hamuje ekspresję białek *CRY* [42]. Rytm ten jest prawdopodobnie wynikiem skoordynowanego działania *EAR1*. Wykazano, że *GSK3- $\beta$*  katalizuje fosforylację receptorów jądrowych i tym samym stanowi negatywny element regulacji rytmu zegara [43]. Ponadto wykazano, że traktowanie solami litu linii komórkowych powoduje szybką degradację *EAR1* i aktywację genu *ARNTL*. Oznacza to, że kontrolowanie stabilności białka *EAR1* może być głównym elementem obwodowego zegara i biologicznym celem terapii litem. Wykazano również, że poza koordynacją pracy zegara *EAR1* bierze udział w utrzymaniu homeostazy stężenia glukozy i metabolizmu energetycznego [44].

### Wyniki badań asocjacyjnych genu *NR1D1*

Gen *NR1D1* został wytypowany jako interesujący gen kandydujący w ChAD ze względu na proces fosforylacji, któremu podlega receptor jądrowy *nr1d1* pod wpływem *GSK3-b* (kineza syntezy glikogenu), która jest jednocześnie celem terapeutycznego działania soli litu w CHAD [45]. Drugim powodem wytypowania tego genu w badaniach asocjacyjnych w ChAD jest jego lokalizacja w regionie sprzężenia z ChAD [46]. Wyniki pierwszych badań asocjacyjnych przeprowadzonych w populacji japońskiej nie potwierdziły udziału genu *NR1D1* w predyspozycji do ChAD i dużej depresji (*major depressive disorder*) [4, 47]. W badaniach zaprezentowanych przez Kripke i wsp. [36] wśród 3 polimorfizmów SNP wskazano na asocjację polimorfizmu genu *NR1D1* (rs2314339) z ChAD ( $p = 0,0005$ ). Autorzy uważają, że ze

względem na intronową lokalizację tego polimorfizmu nie można mu przypisać funkcjonalnej roli i powiązać jej bezpośrednio z objawami ChAD. Może to oznaczać, że polimorfizm ten pozostaje w nierównowadze sprzężeń z innym kluczowym polimorfizmem. Z kolei w badaniach przeprowadzonych w izolowanej populacji Sardyńczyków analizowano dwa polimorfizmy SNP: rs12941497 oraz rs939347. Uzyskane wyniki potwierdziły związek genu *NR1D1* ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na ChAD — uzyskano asocjację haplotypu G-G z ChAD przy zastosowaniu recesywnego modelu choroby oraz asocjację z fenotypem późniejszego wystąpienia choroby przy zastosowaniu addytywnego modelu choroby [48]. Natomiast nie potwierdzono związku wyżej wymienionych polimorfizmów genu *NR1D1* z typem odpowiedzi na leczenie litem [45].

### Gen CRY1

Gen *CRY1* (*cryptochrome 1*) został zlokalizowany dzięki hybrydyzacji *in situ* genu fotolizy 1 do locus 12q23-q24.1 ludzkiego DNA. Fotolizy 1 (*CRY1*) należy do rodziny kryptochromów, których pierwotnie zidentyfikowanym zadaniem u roślin jest usuwanie uszkodzeń DNA indukowanych promieniami UV. U ludzi homologiczne białko *CRY1* w 73% ma taki sam skład aminokwasów jak *CRY2*. Białka te zostały scharakteryzowane jako fuzyjne, wiążące maltozę, zawierające FAD (*flavin adenine dinucleotide*) oraz kofaktor — pterynę. Obydwa białka nie wykazują aktywności fotolitycznej, natomiast prawdopodobnie działają jako fotoreceptory światła niebieskiego. Badania aktywności ludzkiego *CRY1* i *2* pozwoliły ustalić, że ich geny są cyklicznie aktywowane za pośrednictwem sekwencji E-box (CACGTG), do której wiąże się heterodimer białek *CLOCK/BMAL1*, indukując ich transkrypcję. Natomiast, działając w pętli sprzężenia zwrotnego, wraz z białkami *PER* i *TIM* tworzą kompleks powodujący inhibicję heterodimeru *CLOCK/BMAL1*. Wyniki badań Lamii i wsp. [45] prowadzone na fibroblastach myszy wykazały, że kinaza *AMPK* (*5'AMP-activated protein kinase*) fosforyluje i destabilizuje białko *CRY1*. Stymulacja *AMPK* destabilizowała *CRY1* i zaburzała obwodowy rytm okołodobowy. Lamia i wsp. stwierdzili, że dzięki fosforylacji prowadzonej przez *AMPK* kryptochromy mogą przekazać informację o żywieniu zegarom rytmu okołodobowego w narządach obwodowych [49].

### Wyniki badań asocjacyjnych genu CRY1

Podobnie jak w przypadku genu *NR1D1* wskazówką do wytypowania tego genu w badaniach asocjacyj-

nych stały się wyniki analizy sprzężeń. W kilku niezależnych badaniach wskazano na sprzężenie długiego ramienia chromosomu 12 z ChAD w pobliżu loci genu *CRY1* [50, 51]. Wyniki pierwszych badań obejmujących analizę sprzężeń, poszukiwanie mutacji oraz analizę asocjacji 16 polimorfizmów typu SNP i układów haplotypów nie potwierdziły związku genu *CRY1* z ChAD [4, 52]. Natomiast rezultaty ostatnich badań przeprowadzonych na reprezentatywnej grupie pacjentów (534 pacjentów i 440 osób zdrowych z grupy kontrolnej) w populacji hiszpańskiej wskazały na asocjację trzech genów zegarowych, w tym *CRY1*, z ChAD. Istotną statystycznie asocjację z ChAD po zastosowaniu korekty dla testowania wielokrotnego ( $p = 0,007$ ) wykazano w przypadku polimorfizmu SNP (rs2287161) genu *CRY1* [53]. Dotychczasowe wyniki analiz wskazują na konieczność prowadzenia badań replikacyjnych, obejmujących grupy pozwalające na osiągnięcie wystarczającej mocy badania dla weryfikowanej hipotezy, oraz badania obejmujące różne populacje ze względu na efekt stratyfikacji.

### Podsumowanie

Mimo że badania genetyczne w psychiatrii są prowadzone od ponad 20 lat, wiedza o molekularnym podłożu zaburzeń psychicznych jest nadal ograniczona. Zaburzenia psychiczne, w tym ChAD i ChAJ, należą do chorób o złożonej etiopatogenezie. Niemniej jednak wyniki badań populacyjnych potwierdzają znaczącą rolę podłoża genetycznego w rozwoju tych chorób.

Przeprowadzone metaanalizy badań asocjacyjnych w ChAD wskazują na znaczenie kilku genów w predyspozycji do zachorowania. Potwierdzono znaczenie polimorfizmu genu kodującego monoaminooksydazę A (*MAOA*, *monoamine oxidase A*), katechol-O-metyltransferazę (*COMT*, *catecholamine O-methyl transferase*), układ dopaminergiczny, oraz transportera serotoniny (*5HTT*, *5-hydroxytryptamine transporter*), układ serotonergiczny, jednak efekt działania wymienionych genów jest niewielki ( $OR$  [odds ratio] < 2). Wyniki wielu prac podkreślają też znaczenie genu kodującego neurotrofinę (*BDNF*, *brain-derived neurotrophic factor*) w patogenezie ChAD. Zaburzenia rytmu okołodobowego w przebiegu chorób afektywnych stanowią kolejną istotną wskazówkę w poszukiwaniu genów ryzyka w ChAD. Obecnie jednym z intensywnie badanych obszarów są geny zegarowe. Rezultaty dotychczasowych badań wskazały na związek polimorfizmów genu *ARNTL* (kodującego



białko BMAL1), *PER3* (kodującego białko period 3), *CRY1* (kodującego białko z rodziny kryptochromów), *NR1D1* (kodującego białko należące do rodziny receptorów jądrowych) oraz *TIMELESS* z ChAD I. Wykazano również istotny związek polimorfizmu T3111C genu *CLOCK* z zaburzeniami snu w przebiegu zaburzeń afektywnych dwubiegunowych i dużej depresji.

Wyniki zaprezentowanych badań sygnalizują konieczność prowadzenia dalszych analiz obejmujących: duże grupy badane, różne populacje ze względu na efekt stratyfikacji, ścisłe kryteria wyboru pacjentów na podstawie klinicznego obrazu choroby, a nie samego jej rozpoznania. W tym względzie badania rytmów okołodobowych i genów zegarowych w chorobach psychicznych wydają się uzasadnione.

### Streszczenie

Rytm biologiczne to cykliczne zmiany procesów fizjologicznych i aktywności behawioralnej. Spośród kilku rodzajów rytmów biologicznych rytm okołodobowy pełni rolę podstawowego regulatora pozwalającego przystosować liczne procesy wewnętrzne do zewnętrznych czynników środowiska. Zaburzenia działania układu okołodobowego, których konsekwencją są zakłócenia rytmów biologicznych, towarzyszą wielu chorobom. Zaburzenia rytmów biologicznych są jedną z czterech podstawowych kategorii objawów zaburzeń nastroju (obok podwyższenia/obniżenia nastroju, napędu, objawów lęku/drażliwości). W zaburzeniach afektywnych dwubiegunowych (ChAD) zaburzenia rytmu okołodobowego wykazują zróżnicowaną postać i nasilenie. Między innymi głębokość obniżenia nastroju może zmieniać się w rytmie dobowym (typowe poranne pogorszenie nastroju i wieczorna jego częściowa poprawa). Dotychczas potwierdzono znaczenie co najmniej kilku genów w etiopatogenezie zaburzeń nastroju. W zakresie zegara molekularnego zidentyfikowano 21 genów. U ssaków, w tym i człowieka, podstawowe geny zegarowe to 3 geny period — *PER1*, *PER2*, *PER3* — oraz dwa kryptochromy *CRY1* i *CRY2*. Wykazano, że zmiany w genach zegarowych są związane z zaburzeniami cyklicznych procesów fizjologicznych i pojawieniem się objawów psychopatologicznych. Pozwala to sądzić, że istnieje grupa pacjentów z zaburzeniem afektywnym zarówno jedno-, jak i dwubiegunowym, u których choroba jest związana z zaburzeniami funkcjonowania układu okołodobowego. Fakt ten przyczynił się do zainteresowania badaczy zajmujących się wyjaśnieniem genetycznego podłoża zaburzeń psychicznych i wytypowania genów kandydujących spośród genów zegarowych. W niniejszej pracy przedstawiono przegląd dotychczasowych badań asocjacyjnych wybranych genów zegarowych w zaburzeniach afektywnych jedno- i dwubiegunowych.

*Psychiatria* 2010; 7, 4: 151–160

**słowa kluczowe:** choroba afektywna jedno- i dwubiegunowa, rytmy okołodobowe, gen, geny zegarowe, polimorfizm

### Piśmiennictwo

- Merikangas K.R., Akiskal H.S., Angst J. i wsp. Lifetime and 12-month prevalence of bipolar spectrum disorder in the National Comorbidity Survey replication. *Arch. Gen. Psychiatry* 2007; 64 (5): 543–552.
- Mendlewicz J. (red.). *Circadian Rhythms and depression. Current understanding and new therapeutic perspectives.* Rueil-Malmaison Cedex: Wolters Kluwer Health, France 2008.
- Kaladchibachi S.A., Doble B., Anthopoulos N., Woodgett J.R., Manoukian A.S. Glycogen synthase kinase 3, circadian rhythms, and bipolar disorder: a molecular link in the therapeutic action of lithium. *J. Circadian. Rhythms* 2007; 5: 3.
- Shi J., Wittke-Thompson J.K., Badner J.A. i wsp. Clock genes may influence bipolar disorder susceptibility and dysfunctional circadian rhythm. *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.* 2008; 147B (7): 1047–1055.
- Linkowski P. Neuroendocrine profiles in mood disorders. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2003; 6 (2): 191–197.
- Wirz-Justice A. Biological rhythm disturbances in mood disorders. *Int. Clin. Psychopharmacol.* 2006; 21 (supl. 1): S11–S15.
- Bixler E.O., Kales A., Soldatos C.R., Kales J.D., Healey S. Prevalence of sleep disorders in the Los Angeles metropolitan area. *Am. J. Psychiatry* 1979; 136 (10): 1257–1262.
- Ohayon M.M. Epidemiology of circadian rhythm disorders in depression. *Medicographia* 2007; 29: 10–16.
- Giles D.E., Kupfer D.J., Rush A.J., Roffwarg H.P. Controlled comparison of electrophysiological sleep in families of probands with unipolar depression. *Am. J. Psychiatry* 1998; 155 (2): 192–199.
- Hatzinger M., Hemminger U.M., Brand S., Ising M., Holsboer-Trachsler E. Electroencephalographic sleep profiles in treatment course and long-term outcome of major depression: association with DEX/CRH-test response. *J. Psychiatr. Res.* 2004; 38 (5): 453–465.
- Hall D.P. Jr., Sing H.C., Romanoski A.J. Identification and characterization of greater mood variance in depression. *Am. J. Psychiatry* 1991; 148 (10): 1341–1345.
- Terman M., Terman J.S., Quitkin F.M., McGrath P.J., Stewart J.W., Rafferty B. Light therapy for seasonal affective disorder. A review of efficacy. *Neuropsychopharmacology* 1989; 2 (1): 1–22.

13. Rosenthal N.E., Sack D.A., Carpenter C.J., Parry B.L., Mendelson W.B., Wehr T.A. Antidepressant effects of light in seasonal affective disorder. *Am. J. Psychiatry* 1985; 142 (2): 163–170.
14. Germain A. Psychobehavioral approach to circadian rhythm disturbances in depressed patients. *Medicographia* 2007; 29: 56–62.
15. Schulte W. [Sequelae of sleep deprivation.]. *Med. Klin. (Munich)* 1959; 54 (20): 969–973.
16. Rosenthal N.E., Sack D.A., Gillin J.C. i wsp. Seasonal affective disorder. A description of the syndrome and preliminary findings with light therapy. *Arch. Gen. Psychiatry* 1984; 41 (1): 72–80.
17. Knowles J., Waldron J., Cairns J. Sleep preceding the onset of a manic episode. *Biol. Psychiatry* 1979; 14 (4): 671–675.
18. Mouchet-Mages S. Antidepressants and sleep: the need for better treatment. *Medicographia* 2007; 29: 50–55.
19. Frank E., Kupfer D.J., Thase M.E. i wsp. Two-year outcomes for interpersonal and social rhythm therapy in individuals with bipolar I disorder. *Arch. Gen. Psychiatry* 2005; 62 (9): 996–1004.
20. Craddock N., Forty L. Genetics of affective (mood) disorders. *Eur. J. Hum. Genet.* 2006; 14 (6): 660–668.
21. Koskenvuo M., Hublin C., Partinen M., Heikkilä K., Kaprio J. Heritability of diurnal type: a nationwide study of 8753 adult twin pairs. *J. Sleep Res.* 2007; 16 (2): 156–162.
22. Paine S.J., Gander P.H., Travier N. The epidemiology of morningness/eveningness: influence of age, gender, ethnicity, and socioeconomic factors in adults (30–49 years). *J. Biol. Rhythms* 2006; 21 (1): 68–76.
23. Roenneberg T., Kuehne T., Juda M. i wsp. Epidemiology of the human circadian clock. *Sleep Med. Rev.* 2007; 11 (6): 429–438.
24. Manji H.K., Moore G.J., Chen G. Bipolar disorder: leads from the molecular and cellular mechanisms of action of mood stabilizers. *Br. J. Psychiatry Suppl.* 2001; 41: s107–s119.
25. Roemer H.C., Griefahn B., Kuenemund C., Blaszkewicz M., Gerngross H. The reliability of melatonin synthesis as an indicator of the individual circadian phase position. *Mil. Med.* 2003; 168 (8): 674–678.
26. Adam E.K., Hawkey L.C., Kudielka B.M., Cacioppo J.T. Day-to-day dynamics of experience — cortisol associations in a population-based sample of older adults. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2006; 103 (45): 17058–17063.
27. Mansour H.A., Talkowski M.E., Wood J. i wsp. Association study of 21 circadian genes with bipolar I disorder, schizoaffective disorder, and schizophrenia. *Bipolar Disord.* 2009; 11 (7): 701–710.
28. Mirsky H.P., Liu A.C., Welsh D.K., Kay S.A., Doyle F.J. 3rd. A model of the cell-autonomous mammalian circadian clock. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2009; 106 (27): 11107–11112.
29. Roybal K., Theobald D., Graham A. i wsp. Mania-like behavior induced by disruption of CLOCK. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2007; 104 (15): 6406–6411.
30. Katzenberg D., Young T., Finn L. i wsp. A CLOCK polymorphism associated with human diurnal preference. *Sleep* 1998; 21 (6): 569–576.
31. Benedetti F., Dall'aspezia S., Fulgosi M.C. i wsp. Actimetric evidence that CLOCK 3111 T/C SNP influences sleep and activity patterns in patients affected by bipolar depression. *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.* 2007; 144B (5): 631–635.
32. Mansour H.A., Wood J., Logue T. i wsp. Association study of eight circadian genes with bipolar I disorder, schizoaffective disorder and schizophrenia. *Genes Brain Behav.* 2006; 5 (2): 150–157.
33. Liu C., Li S., Liu T., Borjigin J., Lin J.D. Transcriptional coactivator PGC-1 $\alpha$  integrates the mammalian clock and energy metabolism. *Nature* 2007; 447 (7143): 477–481.
34. Sandrelli F., Tauber E., Pegoraro M. i wsp. A molecular basis for natural selection at the timeless locus in *Drosophila melanogaster*. *Science* 2007; 316 (5833): 1898–1900.
35. Shearman L.P., Jin X., Lee C., Reppert S.M., Weaver D.R. Targeted disruption of the mPer3 gene: subtle effects on circadian clock function. *Mol. Cell Biol.* 2000; 20 (17): 6269–6275.
36. Kripke D.F., Nievergelt C.M., Joo E., Shekhtman T., Kelsoe J.R. Circadian polymorphisms associated with affective disorders. *J. Circadian Rhythms* 2009; 7: 2.
37. Benedetti F., Dall'aspezia S., Colombo C., Pirovano A., Marino E., Smeraldi E. A length polymorphism in the circadian clock gene Per3 influences age at onset of bipolar disorder. *Neurosci. Lett.* 2008; 445 (2): 184–187.
38. Pereira D.S., Tufik S., Louzada F.M. i wsp. Association of the length polymorphism in the human Per3 gene with the delayed sleep-phase syndrome: does latitude have an influence upon it? *Sleep* 2005; 28 (1): 29–32.
39. Johansson C., Willeit M., Smedh C. i wsp. Circadian clock-related polymorphisms in seasonal affective disorder and their relevance to diurnal preference. *Neuropsychopharmacology* 2003; 28 (4): 734–739.
40. Nievergelt C.M., Kripke D.F., Barrett T.B. i wsp. Suggestive evidence for association of the circadian genes PERIOD3 and ARNTL with bipolar disorder. *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.* 2006; 141B (3): 234–241.
41. Preitner N., Damiola F., Lopez-Molina L. i wsp. The orphan nuclear receptor REV-ERB $\alpha$  controls circadian transcription within the positive limb of the mammalian circadian oscillator. *Cell.* 2002; 110 (2): 251–260.
42. Etchegaray J.P., Lee C., Wade P.A., Reppert S.M. Rhythmic histone acetylation underlies transcription in the mammalian circadian clock. *Nature* 2003; 421 (6919): 177–182.
43. Yin L., Wang J., Klein P.S., Lazar M.A. Nuclear receptor REV-ERB $\alpha$  is a critical lithium-sensitive component of the circadian clock. *Science* 2006; 311 (5763): 1002–1005.
44. Yin L., Wu N., Curtin J.C. i wsp. REV-ERB $\alpha$ , a heme sensor that coordinates metabolic and circadian pathways. *Science* 2007; 318 (5857): 1786–1789.
45. Manchia M., Squassina A., Congiu D. i wsp. Interacting genes in lithium prophylaxis: preliminary results of an exploratory analysis on the role of DGKH and NR1D1 gene polymorphisms in 199 Sardinian bipolar patients. *Neurosci Lett.* 2009; 467 (2): 67–71.
46. Dick D.M., Foroud T., Flury L. i wsp. Genomewide linkage analyses of bipolar disorder: a new sample of 250 pedigrees from the National Institute of Mental Health Genetics Initiative. *Am. J. Hum. Genet.* 2003; 73 (1): 107–114.
47. Kishi T., Kitajima T., Ikeda M. i wsp. Association analysis of nuclear receptor Rev-erb $\alpha$  gene (NR1D1) with mood disorders in the Japanese population. *Neurosci. Res.* 2008; 62 (4): 211–215.
48. Severino G., Manchia M., Contu P. i wsp. Association study in a Sardinian sample between bipolar disorder and the nuclear receptor REV-ERB $\alpha$  gene, a critical component of the circadian clock system. *Bipolar Disord.* 2009; 11 (2): 215–220.
49. Lamia K.A., Sachdeva U.M., DiTacchio L. i wsp. AMPK regulates the circadian clock by cryptochrome phosphorylation and degradation. *Science* 2009; 326 (5951): 437–440.
50. Curtis D., Kalsi G., Brynjolfsson J. i wsp. Genome scan of pedigrees multiply affected with bipolar disorder provides further support for the presence of a susceptibility locus on chromosome 12q23-q24, and suggests the presence of additional loci on 1p and 1q. *Psychiatr. Genet.* 2003; 13 (2): 77–84.
51. Ewald H., Kruse T.A., Mors O. Genome wide scan using homozygosity mapping and linkage analyses of a single pedigree with affective disorder suggests oligogenic inheritance. *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.* 2003; 120B (1): 63–71.
52. Nievergelt C.M., Kripke D.F., Remick R.A. i wsp. Examination of the clock gene Cryptochrome 1 in bipolar disorder: mutational analysis and absence of evidence for linkage or association. *Psychiatr. Genet.* 2005; 15 (1): 45–52.
53. Soria V., Martinez-Amoros E., Escaramis G. i wsp. Differential Association of Circadian Genes with Mood Disorders: CRY1 and NPAS2 are Associated with Unipolar Major Depression and CLOCK and VIP with Bipolar Disorder. *Neuropsychopharmacology* 2010.