

2014

UNIVERZA NA PRIMORSKEM  
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN  
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

ZAKLJUČNA NALOGA

ZAKLJUČNA NALOGA  
SHIZOFRENIJA IN POVEZAVE MOTNJE SPANJA TER  
DNEVNO NOČNIH RITMOV

LIPIC

VIKTORIJA LIPIC

UNIVERZA NA PRIMORSKEM  
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN  
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

Zaključna naloga

**Shizofrenija in povezave motnje spanja ter dnevno nočnih ritmov**  
(Schizophrenia in relation to sleep disorders and circadian rhythms)

Ime in priimek: Viktorija Lipič  
Študijski program: Biopsihologija  
Mentor: izr. prof. dr. Gorazd Drevenšek

Koper, september 2014

## Ključna dokumentacijska informacija

Ime in PRIIMEK: Viktorija LIPIČ

Naslov zaključne naloge: Shizofrenija in povezave motnje spanja ter dnevno nočnih ritmov

Kraj: Koper

Leto: 2014

Število listov: 44      Število slik: 7

Število referenc: 96

Mentor: izr. prof. dr. Gorazd Drevenšek

Ključne besede: shizofrenija, spanje, motnje spanja, cirkadiani ritmi, epigenetika

Izvleček: V nalogi so prikazani nevrobiološki mehanizmi in ključne genetske povezave vključene v razvoj shizofrenije in uravnavanje spanja. V nalogi so predstavljene raziskave s področja genetike in epigenetike shizofrenije ter prikaz skupnih genetskih in molekularnih mehanizmov shizofrenije in motenj spanja ter cirkadianega sistema. Motnje spanja in shizofrenija so pogosto komorbidne, kar je najverjetneje posledica vključenosti podobnih genetskih in možganskih mehanizmov, vendar ostajajo natančni mehanizmi nejasni in predmet nadaljnjih raziskav. Porušenje cirkadianega ritma pomembno vpliva na vidike nevronske in neuroendokrine funkcije. Socialna izolacija, stres in zdravila prispevajo svoj delež k nadaljnji motenosti dnevno-nočnih ritmov. Te nenormalnosti lahko služijo kot potencialni napovedovalci, kot dodatek h klinični diagnostiki. V delu so podani nekateri kandidatni geni za shizofrenijo, ki so bili v dosedanjih raziskavah povezani tudi s spanjem in cirkadianim delovanjem. V zadnjem delu so predstavljene potencialne raziskovalne težave in omejitve, zaradi variabilnosti med fenotipi bolezni in pomanjkanjem dolgotrajnih in kvantitativnih meritev spanja in cirkadianega razkroja. Obstoječi podatki kažejo na verjetnost, da ima zdravljenje motenj spanja pozitiven vpliv na bolnike s shizofrenijo in vodi k izboljšanju kakovosti življenja.

## Key words documentation

Name and SURNAME: Viktorija LIPIČ

Title of the final project paper: Schizophrenia in relation to sleep disorders and circadian rhythms

Place: Koper

Year: 2014

Number of pages: 44                      Number of figures: 7

Number of references: 96

Mentor: Assoc. Prof. Gorazd Drevenšek, PhD

Keywords: schizophrenia, sleep, sleep disorders, circadian rhythms, epigenetics

Abstract: This thesis is based on the presentation of neurobiological mechanisms and the key genetic links involved in the development of schizophrenia and sleep regulation. The key aspect is to present research findings in the field of genetics and epigenetics of schizophrenia and show common genetic and molecular mechanisms of schizophrenia, disturbances of sleep and the circadian system. Sleep disorders and schizophrenia are often found to be co-morbid, which is most likely due to the inclusion of similar genetic and brain mechanisms. The exact mechanisms, however, remain unclear and are the subject of further research. Disruption of the circadian rhythm has a significant impact on aspects of neural and neuroendocrine functions. Furthermore social isolation, stress and contributing effects of medication can contribute to the disturbances of circadian rhythms. These abnormalities may serve as potential predictors, as an addition to the clinical diagnosis. In this work I aimed to describe certain candidate genes for schizophrenia that were also found to be involved in sleep and circadian regulation. The final section presents potential research problems and limitations due to the variability between different phenotypes of the disease and the lack of long-term and quantitative measures of sleep and circadian disruptions. Existing data points to the likelihood that the treatment of sleep disorders has a positive impact on patients with schizophrenia, which can eventually lead to the improvement of overall quality and satisfaction with life.

**KAZALO VSEBINE**

1	UVOD .....	1
2	SHIZOFRENIJA .....	4
2.1	Genetika shizofrenije .....	5
2.1.1	Genetski dejavniki .....	5
2.1.2	Okoljski dejavniki .....	6
2.2	Vloga epigenetskih mehanizmov pri shizofreniji .....	7
2.2.1	DNK metilacija.....	7
2.2.2	Histonska modifikacija.....	9
2.2.3	Živalski model epigenetike in shizofrenije: dopamin in diatezni stresni modeli	10
3	BIOLOŠKI MEHANIZEM SPANJA .....	12
3.1	Homeostatska kontrola spanca.....	12
3.2	Cirkadiana kontrola spanca.....	13
3.2.1	Mehanizem cirkadianega ritma .....	15
3.2.2	Molekularni mehanizmi cirkadianega ritma.....	16
4	MOTNJE SPANJA IN CIRKADIANEGA RITMA.....	18
5	SHIZOFRENIJA IN MOTNJA CIRKADIANEGA URAVNAVANJA SPANJA ....	19
5.1	Motenost spanja pri shizofreniji .....	22
5.2	Skupni genetski in molekularni mehanizmi shizofrenije in motenosti spanja ter cirkadianega sistema .....	24
5.2.1	SNAP-25.....	25
5.2.2	VIPR2 .....	25
5.2.3	NRG1 .....	26
5.2.4	CCKAR .....	26
5.2.5	Urni (CLOCK) geni.....	26
5.3	Metodološke težave tovrstnih raziskav .....	27
6	SKLEP.....	28
7	VIRI.....	30

## KAZALO SLIK

Slika 1. Shematski prikaz transkripcijskega zaviranja preko DNK metilacije.....	8
Slika 2. Specifične histonske spremembe, ki so povezave z gensko aktivacijo ali genskim zaviranjem. ....	10
Slika 3. Shema cirkadiane in homeostatske interakcije pri regulaciji spanja.....	15
Slika 4. Nastanek cirkadianega ritma in njegova vloga pri uravnavanju fiziološkega delovanja.....	17
Slika 5. Povezave med motnjami spanja in cirkadianega ritma (SCRD) in psihiatričnimi motnjami.....	20
Slika 6. Kompleksen odnos med nevropatologijo (ki vključuje psihiatrične motnje in nevrodegenerativne bolezni), nenormalnim vzorcem sproščanja neurotransmiterjev in cirkadianim nastopom spanca.....	21
Slika 7. Zapoznela faza spanja pri shizofreniji.....	23

## 1 UVOD

Nedavni napredek v našem razumevanju nevronske mehanizmov in genetske podlage spanja in cirkadianih ritmov, ki ga uravnavajo, ter duševnih motenj so omogočili ponovno oceno in pregled teh povezav, kar je vodilo do odpiranja novih vprašanj, ključnih za razumevanje pomena spanja za (zdrave) možgane. Cilj sodobne nevroznanosti je ugotoviti, kaj predstavlja vzrok za nastanek duševnih motenj in kateri mehanizmi pri tem sodelujejo.

V zadnjem desetletju smo bili priča velikemu napredku na področju genetike in genetskega kartiranja. Tovrstna prizadevanja so pogosto ovirana zaradi zapletenega načina dedovanja in verjetnosti obstoja različnih genov z majhnim učinkom. Poglobljeno razumevanje omenjenih mehanizmov lahko privede do odkritja novih metod zdravljenja in pomoči, ki imajo potencial, da bodisi omilijo ali preprečijo povzročene težave, ki pomembno vplivajo na kakovost življenja.

Duševne motnje so rezultat zapletenih interakcij možganskih regij, neurotransmitterskih sistemov in modulatornih hormonov. Motnje v neurotransmitterskih sistemih vplivajo na spanje in cirkadiani sistem, zaradi tega povezava med primarno patologijo duševnih motenj in nenormalnostmi v spanju (Wulff, Gatti, Wettstein in Foster, 2010).

Shizofrenija je huda duševna motnja, ki vključuje veliko paleto simptomov. Najpomembnejši simptomi so pojav slušnih halucinacij, blodenj, otopelost čustev in splošno pomanjkanje motivacije. Navadno se začne med prehodom v odraslo dobo življenja in pomembno poslabša posameznikovo življenjsko uspešnost. Glede na vpliv, ki ga ima shizofrenija na posameznikovo zdravje je njeno psihiatrično zdravljenje nujno, ampak do sedaj še neizpolnjeno (Zanini idr., 2013).

Največja ovira pri dosegu tega cilja je dejstvo, da so nevropsihiatrične bolezni redkokdaj posledica enega samega genskega polimorfizma, okoljske izpostavljenosti ali težav v nevroznem razvoju. Kompleksna interakcija med različnimi vplivi je tista, ki vodi do razvoja in ohranjanja kliničnih sindromov (Karatsoreos, 2014).

Trenutni dokazi za nastanek shizofrenije nakazujejo na interakcijo genetskih in okoljskih dejavnikov, ki vodijo do sprememb v možganih in se zgodijo hkrati z nevroznim razvojem v centralnem živčnem sistemu (Andreasen, 2010). Ker ustreznih diagnostičnih laboratorijskih testov za shizofrenijo še ni, se diagnoza shizofrenije večinoma opira na klinično opazovanje in na informacije, pridobljene od sorodnikov ter javnih zdravstvenih mrež. Genetske dejavnike shizofrenije razlagajo tri vrste epidemioloških študij, ki temeljijo

na razločevanju genetskih in okoljskih tveganj za razvoj bolezni: študije družin, dvojčkov in študije posvojitve (Sanders, Duan in Gejman, 2012).

Čeprav je stopnja dednosti shizofrenije velika, se ocene vpliva dednosti razlikujejo. Fenotip shizofrenije ni mogoče razumeti brez vključitve in upoštevanja pomembnosti okoljskih vplivov na dovzetnost za shizofrenijo in njeno pojavnost, na katere najverjetneje vplivajo okoljski dejavniki preko epigenetskih mehanizmov, ki prispevajo k uravnavanju genske aktivnosti v osrednjem živčnem sistemu, kot sta metilacija DNK in histonska modifikacija (Roth, Lubin, Sodhi in Kleinman, 2009).

Namen naloge je pregled študij motenj spanja in cirkadianega ritma, epigenetike shizofrenije in evalvacija genetskih povezav med shizofrenijo in motnjami cirkadianega ritma spanja.

Motnje spanja s spremembami časovnega okvira spanja in budnosti motijo fiziologijo in spodbujajo številne nepravilnosti, ki segajo od kognitivnih in duševnih do presnovnih motenj in okvar. Porušenje cirkadianega ritma ima učinke na vse vidike nevronske in neuroendokrinske funkcije. Motena fiziologija spanja spodbuja razvoj patologij, ki pa se redkokdaj upoštevajo kot dejavnik, povezan z nenormalnim spancem. Relativno majhne spremembe v okolju lahko vodijo v povečanje ranljivosti posameznika za razna patološka stanja (Wulff idr., 2010).

Pri bolnikih s shizofrenijo so pogoste pritožbe zaradi nespečnosti ali motenj spanja. Le-te niso omejene na trenutno zdravljenje in klinično stabilne. Težave s spanjem imajo negativen vpliv na kakovost življenja bolnikov in lahko vodijo do poslabšanja bolezni. Motnje homeostatskega sistema lahko neposredno prispevajo k spremenjeni občutljivosti organizma na preostale dejavnike, ki medsebojno vplivajo na razvoj duševne bolezni. Motenost spanja in motnje cirkadianega ritma (sleep and circadian rhythm disruption, SCRD) so pogost pojav pri številnih nevropsiholoških boleznih, vključno s shizofrenijo. Spremembe spanja so lahko posledica hujše napake v delovanju možganov, ki vodi do večjih težav pri vsakodnevnem delovanju in poslabša kakovost življenja, tudi zaradi večje socialne izolacije. Omeniti velja, da je bila socialna izolacija in posledično odsotnost družbenih omejitev predlagana kot vzrok za nastanek motenj spanja in cirkadianega ritma (Wulff, Dijk, Middleton, Foster in Joyce, 2012). Razpoloženje in mišljenje je neposredno uravnavano preko spanja in cirkadianega sistema, posredno pa nanju vpliva svetloba in socialna interakcija (Wulff idr., 2010).

Cilj dela je opisati razumevanje do sedaj poznanih molekularnih mehanizmov motenj cirkadianega ritma na spanje in shizofrenijo, kajti prav to prekrivanje lahko privede do novih pristopov zdravljenja motenj spanja pri bolnikih s shizofrenijo in izboljšanja njihove splošne kakovosti življenja. Pregled dosedanjih dognanj iz genetike in epigenetike shizofrenije v povezavi s cirkadianimi procesi in motnjami omogoča bolj celosten pogled



na molekularne osnove, ki so pomembne pri proučevanju prekliničnih modelov duševnih bolezni. Ključna dodana vrednost naloge je v večji osredotočenosti na molekularne in epigenetske mehanizme, ki bistveno vplivajo na razvoj in morebiten nastanek duševnih motenj pri ranljivih skupinah. Dosedanje študije so predstavile dokaze za motnje spanja in cirkadianega ritma pri začetnih stopnjah v razvoju psihoze. Te nenormalnosti lahko služijo kot potencialni napovedovalci, kot dodatek h klinični diagnostiki. Prispevajo lahko pomembne podatke o razvoju duševne motnje pri ogroženih skupinah prebivalstva.

## 2 SHIZOFRENIJA

Shizofrenija je tipično kronična in huda duševna motnja, katere značilnosti so razvrščene v tri glavne skupine. Pozitivni simptomi vključujejo značilnosti, kot so halucinacije, ki so po navadi slušne v obliki glasov ali zvokov in blodnje, ki so večinoma bizarne in paranoidne narave. Negativni simptomi vključujejo pomanjkanje motivacije, socialno odmaknjenost, nepovezan govor in čustveno otopelost. Tretjo skupino predstavljajo kognitivni simptomi, ki se kažejo v slabših opravljenih sposobnostih in pozornosti ter okrnjenosti delovnega spomina (Nestler, Hyman in Malenka, 2009).

Pionir preučevanja bolezni Emil Kraepelin jo je imenoval *dementia praecox*, kar pomeni prezgodnja demenca ali pobeljenost. Kraepelin je menil, da bolezenski proces shizofrenije večinoma vodi do duševnega propada oziroma demence. Emil Bleuler je nato leta 1908 prvič predstavil termin shizofrenija, iz grških korenov "*skhizein*", kar pomeni razdeliti in "*phrēn*", kar pomeni razum. Za razliko od Kraepelina bistva bolezni ni videl v mentalnem primanjkljaju, ampak v cepitvi psihičnega življenja v arhaične fragmente. Med osnovne znake spadajo motnje miselne povezanosti (formalne motnje mišljenja), izkrivljanje čustvenih odzivov (ambivalenca in neustreznost v razmerju do stvarnosti in miselne vsebine), motnje hotenja, depersonalizacija in avtizem. Bolnik se umika iz realnega sveta, se vedno bolj pogloblja v lasten svet psihopatoloških doživetij in ukinja komunikacijo z zunanjim svetom (Tomori in Zihlerl, 1999).

Interakcija genetskih in okoljskih dejavnikov vodi do sprememb v možganih, ki se zgodi z nevrlnim razvojem v centralnem živčnem sistemu. Razvoj možganov je proces, ki poteka stalno skozi vse življenje. Sestavljen je iz določenih razvojnih faz, ki se običajno ali nekatere izključno pojavijo le zgodaj v življenju, kot nastajanje nevronov in nevronske migracije. Ostali procesi, kot so povečana mielinacija in sinaptično slabljenje (zmanjšano število sinaps, ang. synaptic pruning) se pojavijo predvsem med adolescenco, v času razvoja možganov. Proces, kot so sinaptična plastičnost, torej nastajanje in ohranjanje dendritov in sinaps, potekajo skozi vse življenje, tudi v starosti. Nekateri geni, kot so BDNF, NRG1, NGF in RELN imajo pomembno nevrozvojno delovanje (Andreasen, 2010).

Ker ustreznih diagnostičnih laboratorijskih testov za shizofrenijo ni, se diagnoza shizofrenije večinoma opira na klinično opazovanje in na informacije pridobljene od sorodnikov ter javnih zdravstvenih mrež. Do sedaj izvedene epidemiološke raziskave so v veliki večini dosledno poudarile pomen genetskih dejavnikov pri shizofreniji (Sanders, Duan in Gejman, 2012).

## 2.1 Genetika shizofrenije

GWAS asociacijske študije na celotnem genomu (ang. genomwide association studies) so pokazale veliko vpletenost različnih genov, ki sodelujejo pri kompleksnih motnjah kot je shizofrenija. Podatki pridobljeni iz GWAS študij kažejo na frekvenčni spekter shizofrenije, ki vključuje številne skupne in redke mutacije (Purcell, 2009; Shi idr., 2009; Stefansson idr., 2009). Skoraj 800 kandidatnih genov v več kot 1.400 študijah so preiskali v povezavi s shizofrenijo, ampak noben od teh genov nima še do sedaj nedvoumne povezave s pojavom shizofrenije (Karayiorgou in Gogos, 2006; Sanders idr., 2008; Goldstein, 2009, po Karayiorgou, Levy in Xu, 2012). Vsak gen ima majhen vpliv na končen izraz fenotipa bolezni. Posamezne genetske variante same po sebi ne napovedujejo dejavnikov tveganja za razvoj in/ali nastop bolezni. Predvidevajo, da so kompleksne motnje pravzaprav "sistemske motnje", ki nastanejo kot rezultat napačnega delovanja celotnih molekularnih omrežij in ne izhajajo iz nenormalnega delovanja le nekaterih izbranih posameznih genov (Sanders idr., 2012). Raziskovanje genetskih interakcij ostaja v veliki meri neraziskano, zaradi potrebe po popravilu velikega števila statističnih primerjav. Ne glede na težave in omejitve se pristopi razvijajo še naprej s cilji določitve genetskih variant, povezanih s kompleksnimi boleznimi, ugotavljanja razlik oz. variacij v genetskih lastnostih, ki so povezave z izpostavljenostjo raznim vplivom okolja in zagotavljanja hitre izmenjave podatkov v zdravstveni skupnosti (Cornelis idr., 2010).

### 2.1.1 Genetski dejavniki

Genetske dejavnike shizofrenije poudarjajo tri vrste epidemioloških študij, ki temeljijo na razločevanju genetskih in okoljskih tveganj za razvoj bolezni: študije družin, dvojčkov in študije posvojitvev (Sanders idr., 2012).

Stopnja genske podobnosti je močno povezana s stopnjo tveganja. Sorodniki prve stopnje imajo večje tveganje za razvoj bolezni, kot daljni sorodniki prizadetega posameznika (Owen, Williams in O'Donovan, 2004). Študije družin so pokazale, da ima otrok starša s shizofrenijo približno desetkrat večje tveganje za razvoj bolezni, kot splošna populacija (Sanders idr., 2012).

Dosedanje študije dvojčkov kažejo nepopolno enakost za razvoj shizofrenije pri monozigotnih dvojčkih, kar nakazuje na vpletenost epigenetskega mehanizma. Spremembe fenotipa v teh primerih se ne da pojasniti z zaporedjem DNK. Epigenetski mehanizmi lahko prav tako prispevajo k "prenosu" shizofrenije na poznejše generacije (Roth idr., 2009).

Vzorec in skladnost rezultatov poudarja pomen genetskih komponent in okoljskih dejavnikov. Stopnje skladnosti s pojavom shizofrenije niso 100 % pri monozigotnih (identični, enojajčni) dvojčkih (MZ) in stopnja skladnosti pri dizigotnih dvojčkih (DZ) je manj kot polovica verjetnosti pojava kot pri monozigotnih dvojčkih (Tsuang, 2000). Razlike, ki se pojavijo pri monozigotnih dvojčkih, so pripisane okolju in razlike med dizigotnimi dvojčki so pripisane tako dednim in okoljskim dejavnikom. Kontrastne ugotovitve za vsak tip dvojčkov tako omogočajo ocenitev deleža vpletenosti genetskih dejavnikov in dednosti (Sanders idr., 2012). Za MZ dvojčke je bila ugotovljena stopnja skladnosti približno 40-50 % (Cardno idr., 1999), z oceno dedovanja okrog 80 % (Cannon, Kaprio, Lönnqvist, Huttunen in Koskenvuo, 1998; Cardno in Gottesman, 2000; Sullivan, Kendler in Neale, 2003).

Študije posvojitve omogočajo nadaljnjo raziskovanje prispevka, ki ga ima genetika in okoljski vplivi. Metoda je uporabna pri primerjanju stopnje shizofrenije v dveh skupinah posvojencev; posvojenci z običajnimi posvojitelji, katerih biološki starši imajo shizofrenijo in posvojenci z običajnimi biološkimi starši, ki so bili vzgojeni s posvojitelji z diagnosticirano shizofrenijo po postopku posvojitve. Ugotovljeno je bilo, da je bila motnja razvita pri posvojencih z običajnimi posvojitelji z deležem 18,8 %, pri posvojencih z vzreditelji, ki so bili diagnosticirani s shizofrenijo pa 10,7 % (Wender, Rosenthal, Ketty, Schulsinger in Welner, 1974, po Roth idr., 2009). Rezultati študij posvojencev s shizofrenijo kažejo, da igrajo genetski dejavniki zelo pomembno vlogo pri tveganju za shizofrenijo. Ključne ugotovitve vključujejo prenos tveganja ne glede na to, kdaj starš s shizofrenijo doživi nastop bolezni (Ingraham in Kety, 2000).

### 2.1.2 Okoljski dejavniki

Čeprav je stopnja dedljivosti shizofrenije precejšnja se njene ocene razlikujejo in njeno prispevanje k fenotipu shizofrenije ni mogoče razumeti brez vključitve in upoštevanja pomembnosti okoljskih vplivov (Tsuang, 2000).

Obsežne epidemiološke raziskave potrjujejo vlogo posameznikovega okolja pri shizofreniji. Več okoljskih dejavnikov tveganja lahko poveča tveganje za shizofrenijo. Nekateri izmed teh so različni porodni zapleti, lakota, podhranjenost in primanjkljaj pomembnih hranil. Tveganje predstavlja tudi višja starost staršev, materin stres, status migranta in razne prenatalne okužbe, vključno z gripo (Sanders idr., 2012).

Odgovor na vprašanje, kako lahko okolje vpliva na posameznikovo dovzetnost za shizofrenijo, najverjetneje leži v vplivu okoljskih dejavnikov na epigenetske mehanizme, kot so metilacija DNK in histonska modifikacija. Le-te prispevajo k uravnavanju genske aktivnosti v osrednjem živčnem sistemu (Roth idr., 2009).

## 2.2 Vloga epigenetskih mehanizmov pri shizofreniji

Seznam variacij števila kopij (ang. copy number variations, CNV), mikrodelecij in polimorfizmov, povezanih z genetskim tveganjem za pojav shizofrenije se iz dneva v dan povečuje, določitev genetskih vzrokov pa še vedno ni potrjena, zato ne presenečajo modeli bolezni, ki poudarjajo pomembnost vloge epigenetskih dejavnikov pri patofiziologiji shizofrenije (Abdolmaleky, Thiagalingam in Wilcox, 2005; Kaminsky, Wang in Petronis, 2006, po Cheung, Jakovcevski in Akbarian, 2012).

Epigenetika je področje molekularne biologije, ki predstavlja spoznanja, da so spremembe v fenotipu ali izražanju genov posledica mehanizmov, ki ne vključujejo spremembe v zaporedju DNK. Na molekularnem nivoju so epigenetski znaki opredeljeni z metilacijo citozina genomske DNK in posttranslacijskimi spremembami histonov v celičnem jedru. Spremembe se lahko ohranijo preko preostalega življenjskega cikla celice in lahko trajajo tudi več generacij. Zaradi naštetih značilnosti epigenetika na področju raziskovanja shizofrenije predstavlja verjetno molekularno hipotezo. Omogoči lahko veljavne in ponovljive testne alternative genetskih modelov dednosti, raziskovanja kromatinske strukture in funkcije v možganih, tako zdravih, kot bolnih. Na splošno lahko vodi do novih vpogledov v razvoju molekularne patofiziologije shizofrenije (Cheung idr., 2012).

### 2.2.1 DNK metilacija

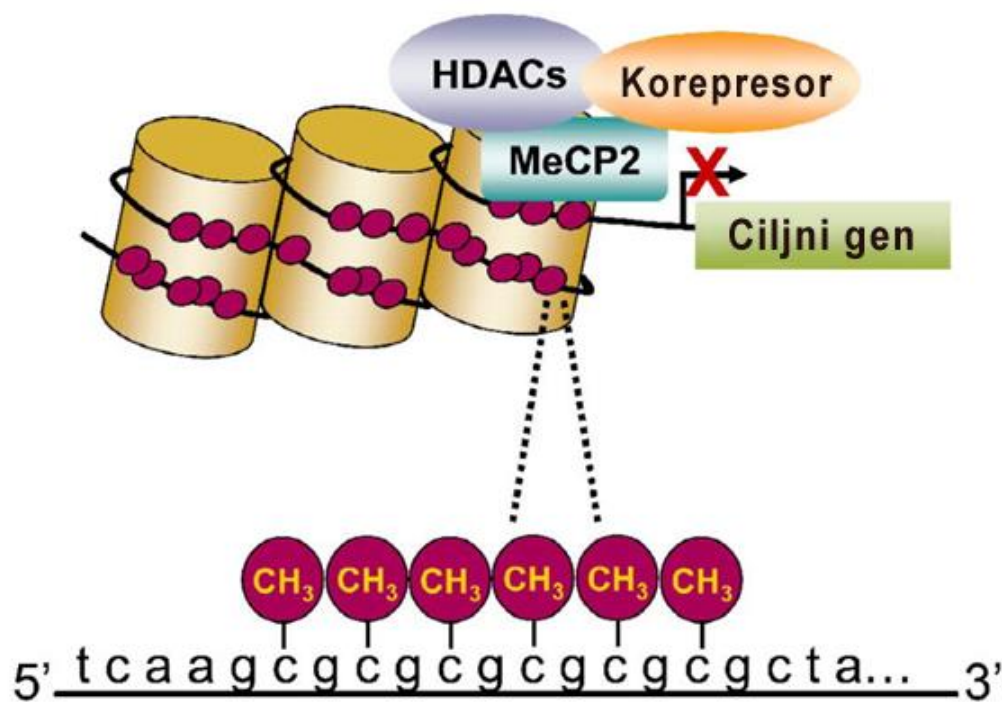
DNK metilacija je neposredna kovalentna sprememba DNK, kjer vsaj trije kodirani encimi, znani kot DNK metiltransferaze, katalizirajo dodajanje  $-CH_3$  skupine na citozin (Roth, 2009). DNK metilacija je pomembna za stabilnost genoma, uravnavanje transkripcije in izražanje specifičnih genov (Suzuki in Bird, 2008, po Cheung idr., 2012).

Ugotovljeno je bilo, da je DNK metilacija znotraj regulatornih območij običajno povezana tudi s preprečevanjem genskega prepisovanja (Bird, 2002; Miranda in Jones, 2007). Ker ima shizofrenija visoko stopnjo dednosti se je vredno vprašati, če se vzorci DNK metilacije lahko prenašajo iz ene generacije v drugo. Glede na dosedanje študije in poročila se tako tudi zdi, saj kažejo, da epigenetski status posameznih genov v prejšnji generaciji vpliva na naslednjo generacijo. Pomembno je omeniti tudi, da nedavne raziskave kažejo na morebitno vpletenost DNK metilacije v aktivacijo prepisovanja in tako ni vpletena samo v preprečevanje genskega prepisovanja, s katerim je običajno povezana (Chahrour idr., 2008; Cohen, Zhou in Greenberg, 2008).

Shizofrenija se po navadi pojavi v odraslem obdobju življenja, običajno med ali po obdobju adolescence. Pri nastopu veliko prispevajo tudi dejavniki iz okolja. DNK metilacija je mehanizem, ki prispeva k pojavu duševne motnje, zato mora biti tudi DNK

metilacija dinamičen proces, ki je prav tako dovzeten za razne vplive iz okolja, kar raziskave vedno bolj poudarjajo. Dokazana je bila plastičnost DNK metilacije v odraslem centralnem živčnem sistemu in pomembnost metilacije za induciranje sinaptične plastičnosti v nastajanju asociacijskih poti spomina. Študije še naprej opozarjajo na pomembnost poporodne nege in oskrbe, saj ima tako okolje neposreden vpliv na DNK metilacijo določene skupine genov. Prenos pozitivnih vidikov materinega obnašanja pri podganah in odzivov na stres je mogoče pripisati metilacijskemu statusu promotorja gena glukokortikoidnega receptorja v hipokampusu matere (Roth idr., 2009). Raziskave kažejo, da stres v zgodnjem obdobju življenja povzroči spremembe v metilacijskemu statusu gena BDNF, ki so lahko posredovane tudi v naslednjo generacijo (Roth, Lubin, Funk in Sweatt, 2009).

DNK metilacija je bila do sedaj preučena le na majhnem številu potencialnih genov za shizofrenijo, med temi so najpomembnejši reelin gen (*RELN*), glutamatna dekarboksilaza 67 (*GAD1*), serotoninški 2A receptor (*HTR2A*), katehol-O-metiltransferaza (*COMT*) in nevrotrofni dejavnik možganskega izvora (*BDNF*) (Roth idr., 2009).



*Slika 1.* Shematski prikaz transkripcijskega zaviranja preko DNK metilacije. Metilirani citozini se vežejo npr. na metil-CpG-vezavni protein (MeCP2), ki zbere nase še ko-represorje in histonske deacetilaze (HDAC). Skupaj to vpliva na bolj kompaktno strukturo kromatina, ki ovira prepisovanje genov (povzeto po Roth idr., 2009, str. 871).

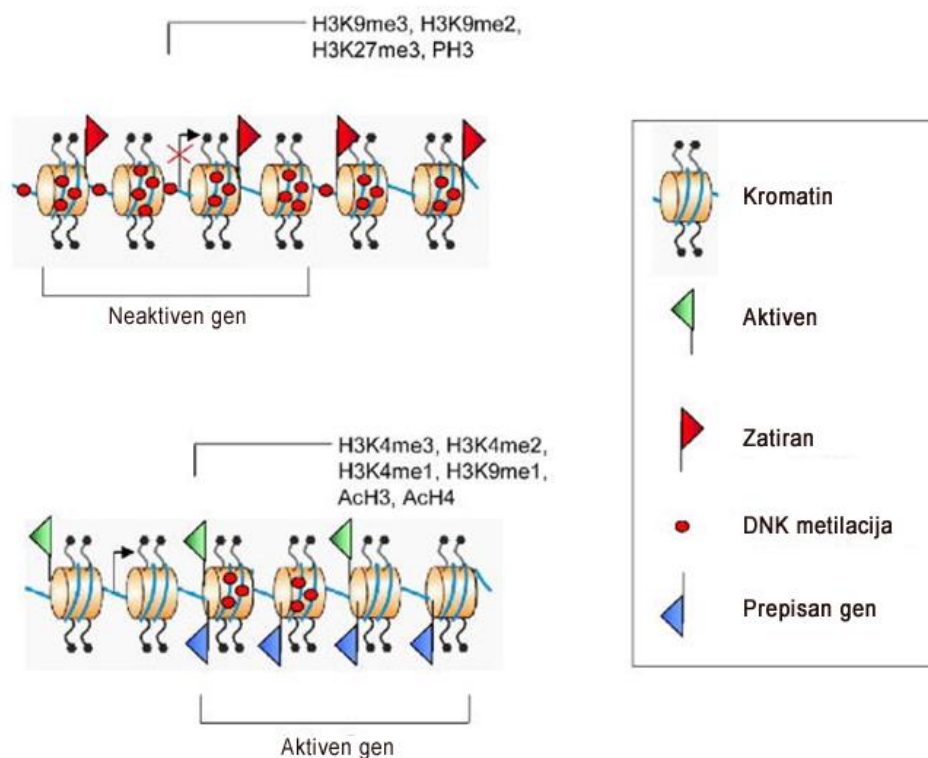
## 2.2.2 Histonska modifikacija

Histoni in histonske kovalentne spremembe so ključnega pomena pri epigenetski kontroli genskega izražanja in genomske organizacije. Histoni so skupaj z DNK, ki je ovit okoli njih, temeljna strukturna enota kromatina evkariontov in na tak način tudi urejajo gensko izražanje, popraviljanje DNK in ločevanje kromosomov.

Dinamične spremembe v strukturi kromatina in dostopnosti transkripcijskih dejavnikov so urejene preko dveh molekularnih mehanizmov: kromatinskega preoblikovanja in spremembe histonskega repa (Felsenfeld in Groudine, 2003, po Cheung idr., 2012).

Akbarian in sod. (2005) so prikazali prvi dokaz o povezanosti histonskih sprememb v prefrontalnem korteksu s shizofrenijo. Drugi so predstavili dokaze o spremembah H3-lizina 4 (H3-lysine 4), 27 trimetilacije (Huang in Akbarian, 2007) in povečano izražanje HDAC1 v prefrontalnem korteksu bolnikov s shizofrenijo (Sharma, Grayson in Gavin, 2008).

Nedavne študije narejene po smrti so pokazale, da histonski kod, ki razločuje kromatin na mestih z aktivnim izražanjem genov in na mestih z zmanjšanim izražanjem genov prispeva tudi k uravnavi prepisovanja genov v človeških možganih (Stadler, Kolb, Rubusch, Baker, Jones in Akbarian, 2005; Huang, Matevossian, Jiang in Akbarian, 2006; Huang idr., 2007, po Cheung idr., 2012). Poleg tega nedavne študije na živalih dokazujejo transkripcijsko dejavnost v raznolikih živalskih modelih učenja, ki jo spremljajo dinamične histonske spremembe (Swank in Sweatt, 2001; Guan idr., 2002; Alarcon idr., 2004; Korzus, Rosenfeld in Mayford, 2004; Li idr., 2004; Tsankova, Kumar in Nestler, 2004; Tsankova idr., 2006, po Cheung idr., 2012). Na podlagi raziskav veljajo načela kromatinskega preoblikovanja in histonskih sprememb tudi v osrednjem živčnem sistemu in postmitotskih nevronih (Martin in Sun, 2004; Colvis idr., 2005, po Cheung idr., 2012).



Slika 2. Histonske spremembe, ki so povezave z gensko aktivacijo ali genskim zaviranjem (povzeto po Roth idr., 2009, str. 874).

Slika 2 prikazuje glavne histonske molekule (H2A, H2B, H3 in H4) pod vplivom raznih kovalentnih sprememb. Kromatin se lahko razdeli na dostopne regije, ki se imenujejo eukromatin ali nedostopne regije, imenovane heterokromatin. Nekatere histonske oznake so povezane z aktivacijo genov, druge pa z zaviranjem. Na primer histon H3, H4 acetilacija (AcH3 in AcH4) in fosforilacija (PH3) so povezani z aktivacijo. H3K4me3, H3K4me2, H3K4me1 in H3K9me1 predstavljajo aktivne transkripcijske regije za začetek preprisovanja, medtem ko je H3K27me3 najti v območjih, ki obsegajo neaktivne gene (Roth idr., 2009).

### 2.2.3 Živalski model epigenetike in shizofrenije: dopamin in diatezni stresni modeli

Dopaminska hipoteza temelji na ugotovitvi, da uporaba amfetamina poveča raven dopamina v mezo-kortiko-limbicni in mezostiatalni poti in povzroča pozitivne simptome shizofrenije, kot so blodnje in halucinacije (Laruelle idr., 1992; Laruelle idr., 1997, po Cheung idr., 2012).

Številni mehanizmi lahko v možganih bolnikov s shizofrenijo privedejo do neravnovesja dopamina. Diatezni stresni model bi bil skladen z modelom, kjer še neznani epigenetski dejavniki sprožijo izbruh bolezni. Možganske anomalije je mogoče opaziti že dolgo pred



nastankom bolezni, zato mora drugi, sprožilni dogodek nastopiti kasneje v življenju, da se sproži razvoj bolezni.

Genetska predispozicija za razvoj bolezni ali okoljski dejavnik, ki fizično ali kemijsko moti delovanje možganov, lahko povzroči, da postanejo možgani bolj ranljivi v zgodnjem prenatalnem in zgodnjem postnatalnem razvoju. Kasneje v življenju lahko različne okoljske značilnosti, ki predstavljajo za posameznika neugodne in neprijetne dogodke povzročijo posamezniku velik stres (Cheung idr., 2012).

Pri glodavcih poteka raziskovanje zgodnjih vplivov okolja običajno z ločevanjem mladičev od matere za kratek čas, vsak dan v času zgodnjega razvoja. Učinki podaljšanega stresa matere so opazni tudi v DNK spremembah in na histonih. Rezultati so obširno opisani v študijah, ki so preučevale hipokampuse podgan in kažejo na povečano DNK metilacijo, ki je bila opazna pri mladičih, deležnih manjšega deleža materine nege (Weaver idr., 2004, po Cheung idr., 2012). Ločitev od matere se je pokazala v pretiranem izražanju shizofrenega fenotipa, vključno z impulzivnostjo in slabim nadzorom nad čustvi v podskupini heterozigotnih miši, ki so imele nižjo stopnjo glikoproteina REELIN (Laviola, Ognibene, Romano, Adriani in Keller, 2009, po Cheung idr., 2012).

Kljub temu, da odkrivajo vedno več polimorfizmov genov, ki so povezani z duševnimi motnjami, so nedavne raziskave o posameznikovi odpornosti na stres pokazale, da imajo dolgoročni okoljski dejavniki lahko tudi epigenetski vpliv na duševno zdravje (Feder, Nestler in Charney, 2009).

### 3 BIOLOŠKI MEHANIZEM SPANJA

Spanje je izmenjujoč-se vzorec živčne, homeostatske, regeneracijske in metabolične dejavnosti, ki izhaja iz različnih predelov v možganih, nevrottransmiterskih sistemov in modulacijskih hormonov. Normalni spanec delimo glede na fiziološke in nevrološke značilnosti na dve fazi: spanje REM (ang. Rapid Eye Movement, hitro premikanje oces) in NREM spanje (ang. Non-REM, ne-hitro premikanje oces) (Kryger, Roth in Dement, 2011). Ameriška akademija za medicino spanja (AASM) NREM spanje nadalje deli še na tri faze: N1, N2 in N3. Za fazo N1 so značilni upočasnjeni očesni gibi, opaziti je spremembo možganskih valov iz alfa v theta valove. V fazi N2 se pojavijo značilni K sklopi. N3 je faza globokega spanca, v kateri prevladuje spanje počasnih valov (ang. slow-wave sleep) (Silbert idr., 2007).

NREM spanje se nadaljuje v REM fazo, ki jo spremlja precejšnja mišična paraliza (motorična atonija). Odrasli tekom noči prespijo približno štiri do pet spalnih ciklov NREM in REM z dolžino posamičnega obdobja med 80 in 110 minut (Krueger, Rector, Roy, Van Dongen, Belenky in Panksepp, 2008).

Potreba po spanju je med sesalci, pticami, plazilci in ostalimi preprostejšimi organizmi univerzalna in evolucijsko zelo ohranjena. Obstoj spalnih stanj pri morskih sesalcih, ki morajo ostati budni, da lahko dihaajo, je pomemben pokazatelj, da je stanje spanja bistvenega pomena, vendar je še danes med znanstveniki kompleksno vedenje spanja in njegova funkcija slabo razumljena. Danes najbolj priljubljena teorija funkcije spanja je prepričanje, da je spanje ključnega pomena za ponovno vzpostavitev in popravo telesnih funkcij. To teorijo spremlja napačno prepričanje, da je spanje neaktivno stanje. Tiha budnost in spanje se glede porabe energije zelo malo razlikujeta, zato je malo verjetno, da se je spanje evolucijsko ohranilo zaradi varčevanja z energijo (Nestler idr., 2009).

Borbély (1982) je v 2-procesnem modelu uravnavanja spanja predstavil medsebojno delovanje homeostatskih in cirkadianih dejavnikov. Cirkadiani sistem in homeostatski sistem predstavljata dva glavna mehanizma, ki uravnavata spanje.

#### 3.1 Homeostatska kontrola spanca

Vključuje regulatorje spanja, kot so adenzin, muramil dipeptid, interlevkin-1, prostaglandin PGD<sub>2</sub> in druge. Količina zunajceličnega adenzina se zmanjša med fazo globokega spanca in poveča pri podaljšanem budnem stanju. Pomanjkanje spanja vodi v povečanje adenzina v bazalnih možganih, še posebej v zunajceličnem prostoru substance innominate, kar poveča potrebo po spanju predvsem s tem, da zavira holinergične nevrone

(Nestler idr., 2009). Holinergični nevroni v bazalnih možganih so aktivni v času budnosti in fazi REM spanja. Povečana aktivnost holinergičnih nevronov v času budnosti naj bi vplivala na povečano sproščanje adenzina, kar vodi v prenehanje proženja nevronov zaradi povišane količine adenzina. Inhibicija adenzina v bazalnih možganih vodi v povečano raven zunajceličnega adenzina, kar vodi v povečano potrebo po spanju.

Adenzin lahko torej uporabimo kot označevalec določanja trajanja budnosti in kot pokazatelj povečane potrebe po spancu. Dokazi študij, narejenih na miših z izbitim genom so pokazale, da ima adenzin modulatorni in ne direktni vpliv na indukcijo spanja (Porkka-Heiskanen, Strecker, Thakkar, Bjorkum, Greene in McCarley, 1997).

### 3.2 Cirkadiana kontrola spanca

Cirkadiani ritmi so tako kot homeostatski regulatorji visoko evolucijsko ohranjeni. Najdemo jih v zelo preprostih organizmih (glive, bakterije) in bolj kompleksnih organizmih, kot so rastline, nevretenčarji in vretenčarji, kamor spada tudi človek, *Homo sapiens* (Španinger, Košir, Fink, Debeljak in Rozman, 2009). Cirkadiani ritmi so zunanji pokazatelji našega notranjega mehanizma, ki meri dnevni čas. So ritmi, ki se pojavljajo v organizmu s periodo, ki je nekoliko daljša ali krajša od 24 ur. Pri ljudeh in ostalih organizmih je biološka ura ali cirkadiani spodbujevalec mesto uravnavanja cirkadianih ritmov (Reppert in Weaver, 2001).

Cirkadiani cikli pripravijo organizem na hranjenje, mu pomagajo pri izogibanju plenilcem in soočanjem s spremembami v okolju, na primer pri spremembah v temperaturi in svetlobi. Da so lahko uporabni, morajo biti cirkadiani ritmi odzivni na dejavnike iz okolja (Nestler idr., 2009). Velika večina fizioloških funkcij je pod vplivom biološke ure v okviru dnevno-nočnih sprememb svetlobe (Zeitzer idr., 2005). Svetloba deluje kot osnovni in najpomembnejši dejavnik, ki v organizmu definira čas, tako imenovani ritmovnik oz. »zeitgeber«. Izraz pomeni dajalec časa oz. sinhronizator. Poleg svetlobe so drugi dejavniki temperatura, dostopnost do hrane in socialni vplivi (Nestler idr., 2009).

Najpomembnejši časovni ritmovnik za človeka je dnevno-nočni cikel, še posebej med temno fazo, ko se iz češerike v krvni obtok izloča hormon melatonin (Španinger in Fink, 2007).

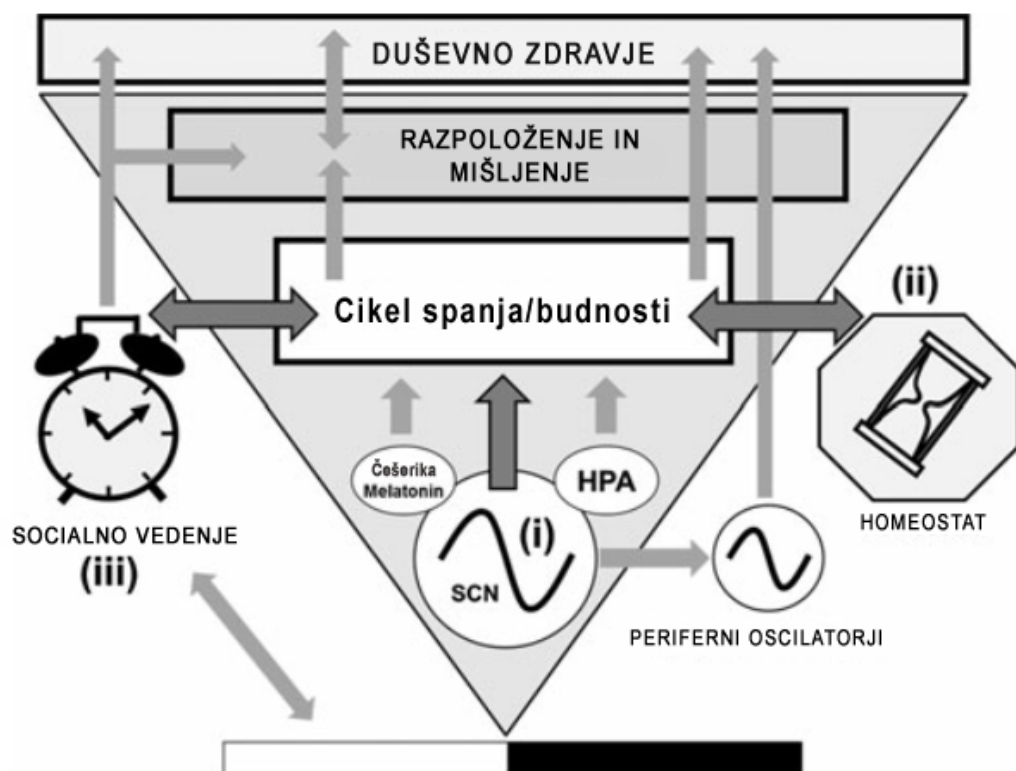
Veliko večino cirkadianih ritmov sesalcev nadzira suprakiazmalno jedro (SCN), ki se nahaja v sprednjem hipotalamusu in deluje kot centralna ura. SCN daje takt nevroendokrinim ritmom, uravnava telesno temperaturo in periode REM spanja (Nestler idr., 2009).

Suprakiazmalno jedro je občutljivo na spremembe različnih živčnih prenašalcev in hormonov, kar vključuje tudi melatonin. Nočna osvetlitev lahko vpliva na zmanjšano izločanje melatonina iz češarike. Majhne spremembe v izpostavljenosti svetlobi v poznih večernih urah bistveno vplivajo na cirkadiani spodbujevalnik in koncentracije melatonina v plazmi. Spremembe lahko vodijo do razkrojenosti ritma, kar je opazno tudi pri nekaterih motnjah spanja, povezanih s staranjem, izmenskimi delom in s spremembami časovnih pasov (Zeitzer, Dijk, Kronauer, Brown in Czeisler, 2000).

Telesna temperatura in melatonin sta prav tako pomembna v začetni fazi utrjevanja spanja pri ljudeh. Med njima najverjetneje obstaja fiziološka povezava (Gilbert, van den Heuvel, Kennaway in Dawson, 1999).

Sinteza in sproščanje melatonina je urejeno preko več sinaptičnih poti, ki izvirajo iz suprakiazmalnega jedra. Raven melatonina se običajno poveča kmalu po nastopu mraka, ko se začne faza spanca in telesna temperatura pade v pričakovanju zore. Če so posamezniki v času noči izpostavljeni močni svetlobi, je sinteza melatonina blokirana, kar nakazuje, da melatonin lahko deluje kot pokazatelj izpostavljenosti svetlobi in temi (Dijk in Duffy, 1999). Raziskave so pokazale, da lahko melatonin in njegovi sintetični agonisti povzročijo tudi premik v cirkadianem času cikla budnosti in spanja (Arendt in Skene, 2005; Rajaratnam idr., 2009). Melatonin je bil vpleten tudi v uravnavanje številnih elementov HPA stresne osi (hipotalamus-hipofiza-nadledvična žleza), saj se receptorji za melatonin nahajajo tudi na večjih nevroendokrinih celicah v hipotalamusu (Lincoln, 2006).

Veliko raziskav je poročalo o spremenjenih ravneh melatonina pri psihiatričnih in nevroloških motnjah. Upoštevajoč kompleksnosti teh motenj se da malo zaključiti o morebitni povezavi s funkcionalno vlogo melatonina. Vsakršna vključenost melatonina je najverjetneje povezana s kronobiotičnimi lastnostmi in/ali z endokrinimi prilagoditvami. Predlagano je bilo, da so patološke spremembe v bioloških ritmih, vključno z ritmom melatonina, povezane s stresno povzročeno degeneracijo HPA osi (Macchi in Bruce, 2004). Osebe s shizofrenijo kažejo zvečer zmanjšan odziv na povečano raven melatonina, ki ga uspešno zdravljenje z antipsihotiki še ni uspelo spremeniti (Monteleone, Natale, La Rocca in Maj, 1997).



Slika 3. Shema cirkadiane in homeostatske interakcije pri regulaciji spanja (Pritchett idr., 2012, str. 1064)

Slika 3 prikazuje osnovne komponente vključene v nastanek in ohranjanje cikla budnosti in spanja v odnosu do razpoloženja, mišljenja in duševnega zdravja. Razpoloženje in mišljenje je neposredno uravnava preko spanja in cirkadianega sistema, posredno pa nanju vpliva svetloba in socialna interakcija (Wulff idr., 2010).

Cirkadiani in homeostatski sistem ureja več nevrottransmitterskih in možganskih sistemov, ki sodelujejo v stanju budnosti in spanja. Vedenje spanja in budnosti pa povratno deluje nazaj na cirkadiani spodbujevalnik in homeostatsko kontrolo. Vse komponente so uravnotežene preko svetlobe, ki usklajuje cirkadiani spodbujevalnik s ciklom svetlobe in teme ter zavira nastajanje melatonina iz češarike, kar vpliva na povečano ali zmanjšano stopnjo budnosti. Navsezadnje je potrebno omeniti tudi socialno dejavnost, kot so časi obrokov ali prisilno prebujanje zaradi budilke, ki vpliva na aktivnost spanja in budnosti (Krueger idr., 2008).

### 3.2.1 Mehanizem cirkadianega ritma

Molekularno uro sestavljajo tri komponente. Prva se imenuje vnos in povezuje notranji cikel z različnimi zunanjimi spremembami. Pod te spremembe spadajo na primer nihanja

dneva in noči ter temperature spremembe. Druga je avtonomni (centralni) vzpodbujevalec, skupek celic z namenom ohranjanja cirkadianega nihanja. Pri sesalcih to funkcijo opravlja suprakiazmalno jedro v možganih (SCN). In navsezadnje tretja komponenta molekularne ure deluje kot učinek, prenese nihanje vzpodbujevalca preko drugotnih oscilatorjev do perifernih tkiv. Učinek se kaže kot cirkadiano nihanje (Španinger idr., 2007).

### 3.2.2 Molekularni mehanizmi cirkadianega ritma

V zadnjem desetletju 20. stoletja je več odkritij pomagalo osvetliti osnove molekularnih mehanizmov cirkadianega ritma. Najpomembnejša odkritja vključujejo identifikacijo Clock gena pri sesalcih, gena Period (Per) in Timeless pri vinski mušici *Drosophila* in gena Frequency pri glivi *Neurospora* (Nestler idr., 2009).

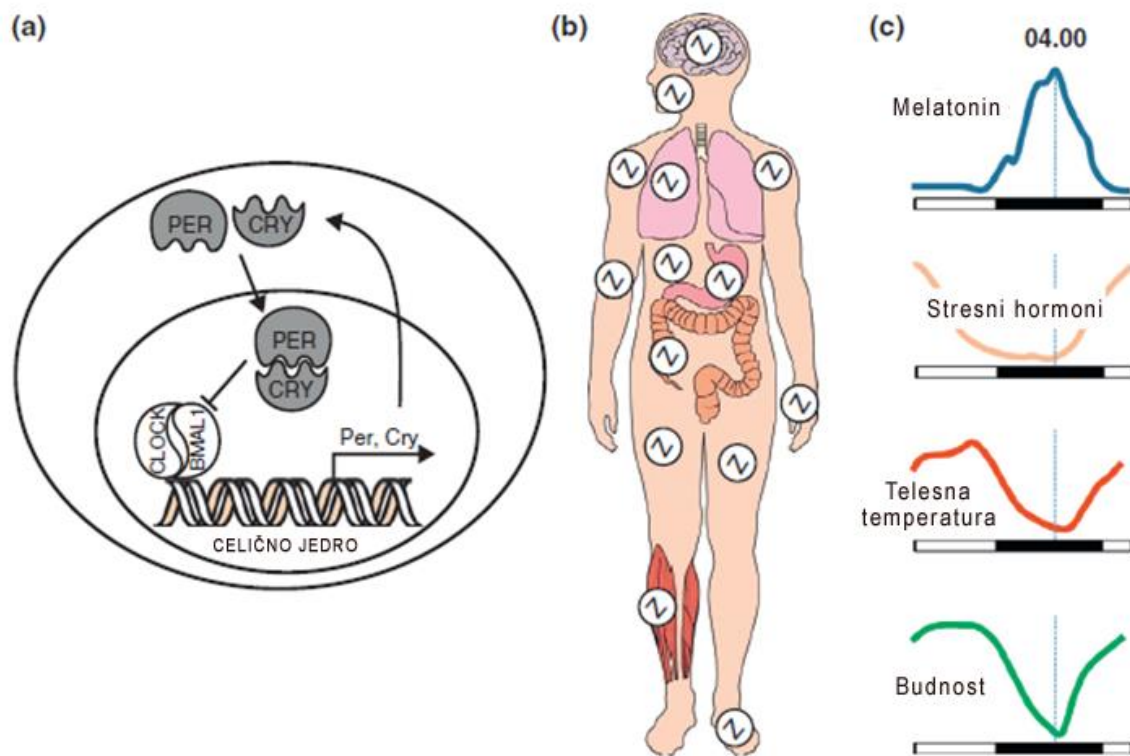
Danes je pri sesalcih znanih že veliko cirkadianih genov, ki delujejo kot transkripcijski dejavniki in so visoko evolucijsko ohranjeni. Najpomembnejši izmed teh so Clock, Bmal, Per 1, Per2, Per3, Cry1, Cry2, ROR- $\alpha$ , Rev- $\alpha$  in Rev- $\beta$ , DBP, Npas2 (Španinger idr., 2009).

Razni proteini vsebujejo molekularno kolo, ki nadzira osrednjo uro sesalcev, najpomembnejši med temi so trije Period proteini (PER1, PER2 in PER3), dva proteina Citokroma (CRY1 in CRY2), dva BMAL proteina in CLOCK. Oba proteina BMAL in CLOCK spadata v skupino cirkadianih transkripcijskih dejavnikov, BMAL1 in CLOCK tvorita pri sesalcih heterodimer z namenom tvorjenja aktivnega transkripcijskega kompleksa, ki se veže na promotorske elemente, ki so prisotni v genih Period in Citokroma (Hirayama in Sassone-Corsi, 2005). Povečano prepisovanje gena Per in Cry vodi v povečane koncentracije proteina, kar zavira delovanje heterodimer BMAL in CLOCK, s čimer se zavre prepisovanje. Mehanizem predstavlja negativno povratno zanko, kjer protein Period zavre prepisovanje lastnega gena in je osnova vseh cirkadianih ritmov (Španinger idr., 2009).

Poleg negativnih in pozitivnih povratnih učinkov drug na drugega, uravnavajo nekateri izmed prej naštetih genskih produktov tudi ekspresijo mnogih drugih cirkadianih genskih produktov, ki vplivajo na cirkadiano delovanje mnogih fizioloških procesov, kot je vnos hrane, ohranjanje telesne temperature, sinteza hormonov in metabolizem (Hirayama idr., 2005).

Čeprav je suprakiazmalno jedro v možganih glavna cirkadiana kontrolna regija, pomembna za prilagajanje cirkadianih ritmov okoljski svetlobi, je pomembno poudariti tudi vlogo ostalih cirkadianih genov, med katerimi je najpomembnejši Clock. Clock gen in ostali cirkadiani geni so izraženi v možganih in perifernih tkivih, kjer prav tako kažejo

značilnosti cirkadianih krogov. Cirkadiani ritmi v določenih možganskih strukturah, ki niso odvisne od suprakiazmalnega jedra, lahko prispevajo k cirkadianemu uravnavanju razpoloženja, nagrajevanja in ostalih kompleksnih funkcij. Na primer gen NPAS lahko uravnava molekularne cirkadiane ritme v odsotnosti Clock proteina (Nestler idr., 2009).



Slika 4. Nastanek cirkadianega ritma in njegova vloga pri uravnavanju fiziološkega delovanja (povzeto po Jagannath, Peirson in Foster, 2013, str. 889).

Slika 4 prikazuje a) molekularno uro, ki obsega transkripcijsko-translacijsko povratno zanko transkripcijskih dejavnikov CLOCK in BMAL1, preko katerih se izražata gena Per in Cry, vključno z ostalimi geni, ki urejajo fiziologijo in presnovo. b) Pri ljudeh se glavna ura nahaja v SCN in preko SCN komunicira z ostalimi perifernimi urami v telesu, ter tako uravnava in koordinira ritmične fiziološke odgovore. c) Primeri odgovorov vključujejo (od zgoraj navzdol) uravnavanje izločanje melatonina iz česarike, ravni stresnih hormonov, uravnavanje telesne temperature in ravni budnosti (Jagannath idr., 2013).

## 4 MOTNJE SPANJA IN CIRKADIANEGA RITMA

Cikel spanja in budnosti je eden izmed najbolj pomembnih ciklov, ki je uravnavan preko notranje biološke ure. Vpliv centralne cirkadiane ure potrjujejo tudi številni nevrološki dokazi. Dosedanje genetske analize motenj spanja povezanih s cirkadianim ritmom (CRSD - circadian rhythms sleep disorders) so pokazale, da obstaja povezava med mutacijami genov cirkadiane ure in določenimi boleznimi (Španinger idr., 2009).

Mutacije cirkadianih genov lahko povzročijo težave spanja in metabolizma in se lahko izrazijo kot različna bolezenska stanja. Na nivoju celice so najpomembnejše mutacije že prej omenjenih genov Clock in Per, ki sodelujejo pri cirkadianem nihanju. Do motenj v cirkadianem ritmu pride večinoma pri delavcih, ki delajo ponoči. Porušen cirkadiani ritem je velikokrat opaziti tudi pri starostnikih (Španinger idr., 2007).

Cirkadiani ritem je moten tudi pri različnih rakavih obolenjih, motnjah spanja, pri nevrodegenerativnih boleznih, kot so Parkinsonova bolezen, Huntingtonova bolezen, multipla skleroza in Alzheimerjeva bolezen. Opaziti ga je tudi pri številnih duševnih motnjah, še posebej pri hudi (veliki) depresivni motnji (ang. Major depressive disorder), sezonski afektivni motnji, bipolarni motnji, shizofreniji in tesnobnostnih motnjah, pod katere spadajo generalizirana tesnobnostna motnja, post-travmatska stresna motnja (PTSM), panična motnja in obsesivno-kompulzivna motnja (OKM). Duševne motnje in nevrodegenerativne bolezni se velikokrat pojavijo sočasno z neko obliko motnje spanja ali razkrojem cirkadianega ritma spanja (Wulff idr., 2010).



## **5 SHIZOFRENJA IN MOTNJA CIRKADIANEGA URAVNAVANJA SPANJA**

Motenost spanja in motnje cirkadianega ritma (sleep and circadian rhythm disruption, SCRD) so pogost pojav pri številnih nevropsiholoških boleznih, vključno s shizofrenijo. Natančni mehanizmi delovanja za zdaj še ostajajo nejasni, vendar novejši podatki kažejo, da komorbidnost oz. sočasen obstoj obeh motenj ne nastane zgolj zaradi zdravil ali socialne izolacije. Sočasna pojavnost odraža skupno prizadete osnovne mehanizme in poti delovanja. SCRD je najti med diagnostičnimi merili za psihiatrične motnje, vendar je sama etiologija SCRD slabo razumljena in njeno zdravljenje velikokrat zanemarjeno (Jagannath idr., 2013).

Shizofrenija je povezana z motnjo cirkadianega ritma z nenormalnim nastopom, vključno z nestabilnostjo in razdrobljenostjo ritmov počitka in dejavnosti. Osebe, ki imajo težave s spanjem in razkrojen cirkadiani ritem imajo slabšo kakovost življenja (Pritchett idr., 2012). Zmanjšana sposobnost za spopadanje s stresom in ohranjanjem socialnih odnosov še poudarja posledice, ki jih ima moten spanec in razkrojenost cirkadianega ritma pri ljudeh s shizofrenijo (Hofstetter, Lysaker in Mayeda, 2012). Bolniki dajejo veliko prioriteto izboljšanju spanja, ki je poleg delovanja v družbi, izobraževanju o lastni duševni bolezni in boljšega razpoloženja zanje ena izmed najpomembnejših nalog med zdravljenjem (Auslander in Jeste, 2002).

Motenost spanca je bila prej v veliki meri pripisana učinkom zdravil in motenemu načinu življenja, ki so posledica duševne bolezni. Nedavni rezultati raziskav so prinesli novo razumevanje osnovnih mehanizmov spanca in cirkadianega ritma in pokazali na neposredne povezave med SCRD in nevropsihiatričnimi boleznimi zlasti pri shizofreniji, bipolarni motnji in veliki depresivni motnji (Jagannath idr., 2013).

Motnje spanja in cirkadianega ritma vplivajo na bolnike, ki jemljejo zdravila in tudi tiste, ki jih ne jemljejo. Dejanski pojav motenj spanja se pogosto zgodi pred diagnozo shizofrenije, še preden so osebi predpisana zdravila. Predlagan vzrok SCRD shizofrenije je tudi socialna izolacija oseb in posledično odsotnost družbenih omejitev (Pritchett idr., 2012).

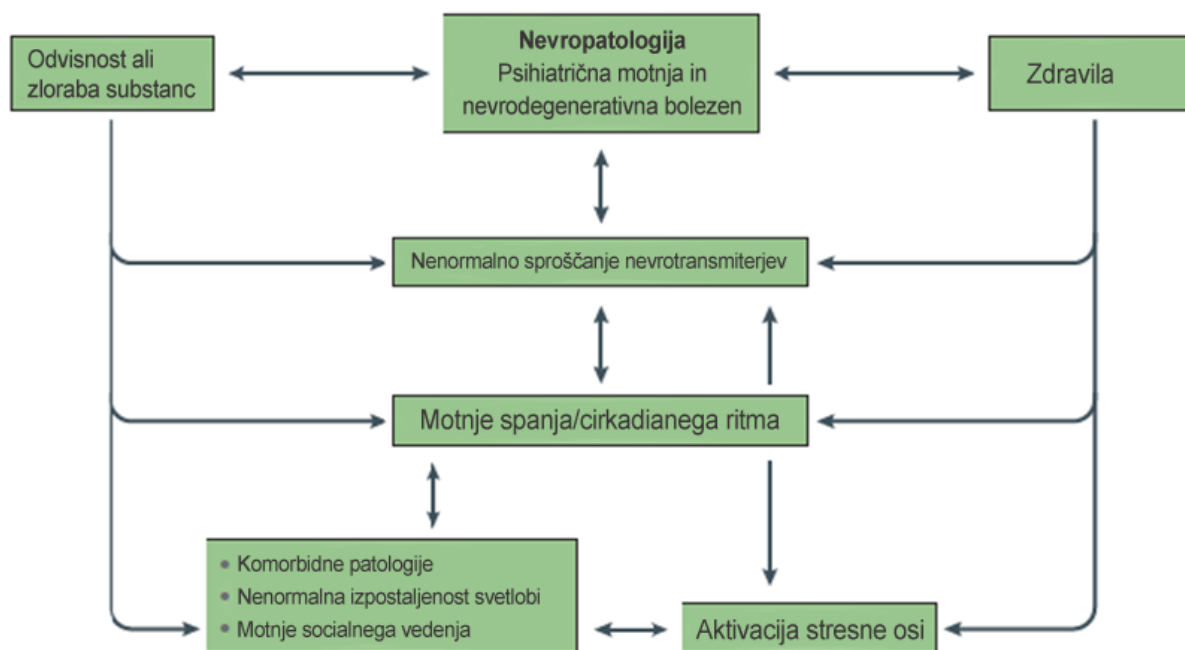


*Slika 5.* Povezave med motnjami spanja in cirkadianega ritma (SCRD) in psihiatričnimi motnjami (povzeto po Jagannath idr., 2013, str. 890).

Nedavni dokazi kažejo na bolj ciklični odnos med povezavami SCRD in psihiatričnimi motnjami namesto linearnega razmerja, pri čemer so na psihiatrične bolezni gledali kot na rezultat motenj spanja in cirkadianega ritma, stresne osi, socialne izolacije in/ali uporabe določenih zdravil. Trenutni rezultati kažejo, da imajo psihiatrične bolezni in SCRD skupne in prekrivajoče-se mehanizme. Psihiatrične bolezni in SCRD se medsebojno krepijo. Napake v nevrottransmisiji, nevrološkem razvoju in kognitivnih ali zdravstvenih težavah lahko negativno vplivajo na spanje in cirkadiane ritme ter stresne osi. Medtem ko stres, socialna izolacija in zdravila, ki jih jemlje oseba zaradi duševne motnje lahko prispevajo k nadaljnji motenosti dnevno-nočnih ritmov (Jagannath idr., 2013).

Spanec je rezultat zapletenega medsebojnega delovanja možganskih regij in nevrottransmitterjev. Posledično nepravilnosti v vsakem sistemu vplivajo na več ravni delovanja. Podobno je shizofrenija motnja raznih možganskih vezij, ki vplivajo na vrsto nevrottransmitterskih sistemov. Nekatere izmed teh se prekrivajo s tistimi, ki sodelujejo pri uravnavanju spanca in cirkadianih ritmov in imajo številne učinke, ki vplivajo na neuroendokrino in kognitivno delovanje. Pomanjkanje spanja in cirkadiana razkrojenost vpliva na kognicijo pri zdravih posameznikih. Ker so kognitivne oslavitve pomemben simptom shizofrenije, lahko cirkadiana razkrojenost in motnje spanja še dodatno poslabšajo kognitivne motnje. Bolniki s prevladujočimi negativnimi simptomi shizofrenije

so še posebej občutljivi na motnje spanja in cirkadianega ritma, saj cirkadiana razkrojenost poveča negativno razpoloženje, občutke razdražljivosti in čustveno nihanje že pri zdravih posameznikih. Izboljšanje negativnih simptomov je pogosto skladno z izboljšanjem kakovosti spanja (Pritchett idr., 2012).



*Slika 6.* Kompleksen odnos med nevropatologijo (ki vključuje psihiatrične motnje in neurodegenerativne bolezni), nenormalnim vzorcem sproščanja neurotransmiterjev in cirkadianim nastopom spanca (povzeto po Wulff idr., 2010, str. 5).

V središču vseh nevroloških bolezni je nenormalna raven sproščanja oz. delovanja enega ali večih neurotransmiterskih sistemov, ki najverjetneje posegajo v cirkadiani sistem in vplivajo na motenost spanja. Za normalni potek spanja in delovanje cirkadianega sistema je pomembno skupno delovanje več možganskih regij in neurotransmiterjev.

Motnje spanja in cirkadianega nadzora vplivajo na vse vidike nevrološkega in neuroendokrinega delovanja, kar lahko ima za posledico sočasno pojavnost motnje spanja in določene duševne motnje. Motnje spanja in cirkadianega ritma pogosto pripeljejo do nenormalnega socialnega vedenja in izpostavljenosti svetlobi, kar še dodatno vpliva na destabilizacijo cirkadiane fiziologije in spanja. Mnoge izmed teh anomalij bodo aktivirale stresno os, ki še dodatno izkrivlja fiziološke odzive. Dodatno lahko h glavnim motnjam neuroendokrinih in nevronskih mrež prispeva še vpliv zdravil, ki jih jemlje obolela oseba, določene odvisnosti in zloraba drog (Wulff idr., 2010).

## 5.1 Motenost spanja pri shizofreniji

Natančna vloga spanja pri ohranjanju optimalnega zdravega stanja in funkciji spanja še ni povsem znana, ampak jasno je, da imajo motnje spanja velik vpliv na življenje prizadetih posameznikov. Vloga pri psihiatričnih motnjah ni omejena le na obstoj povezav med motnjami spanja, okvarjenim delovanjem spanja in cirkadianega ritma spanja. Kadar se motnje spanja pojavijo skupaj s psihiatričnimi motnjami tudi vplivajo na splošen potek in nadaljnji razvoj duševne motnje (Krystal, Thakur in Roth, 2008).

Nenormalno spanje je bilo opisano pri bolnikih s shizofrenijo že leta 1920. Prav tako je bilo opisano kot skupna značilnost pri bolnikih, ki niso bili zdravljeni z zdravili in pri bolnikih, ki jih dolgoročno zdravijo z antipsihotiki (Wulff idr., 2010).

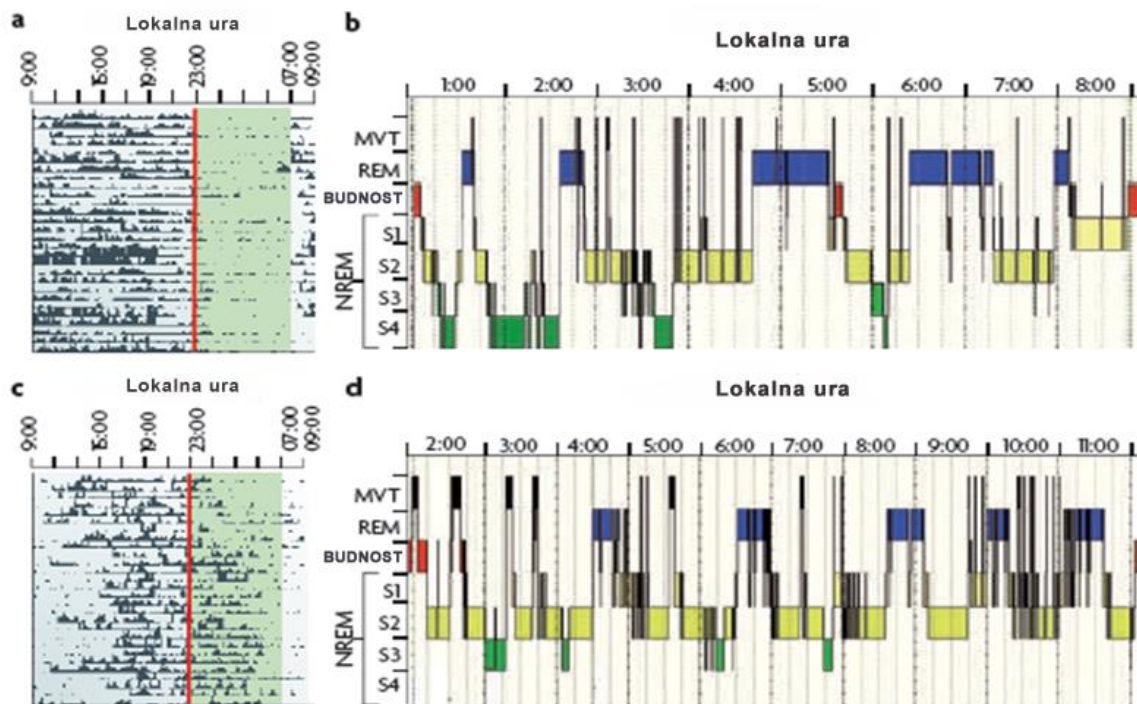
Pogoste so težave z začetkom in ohranjanjem spanja. Moten spanec lahko najdemo pri 30-80 % bolnikov s shizofrenijo, kar je odvisno tudi od resnosti psihotičnih simptomov, med katere se štejejo predvsem različne blodnje in slušne halucinacije. Merjenja s polisomnografijo so pri večini bolnikov s shizofrenijo pokazala zmanjšano učinkovitost spanja, zmanjšan skupni čas, ki ga je oseba preživela v spanju in povečano latenco spanja. Najdemo jih pri večini bolnikov in predstavljajo pomemben del patofiziologije shizofrenije.

Nekatere študije poročajo o spremembah v drugi fazi spanca, fazi globokega spanca (slow-wave sleep, SWS) in REM fazi, za katero je značilna zmanjšana REM latenca in REM gostota. Od teh sta količina globokega spanca in latenca REM faze pomembno povezani s kliničnimi spremenljivkami, vključno z resnostjo bolezni, pozitivnimi in negativnimi simptomi, končnim izidom bolezni, ter nevrokognitivnimi okvarami in možgansko strukturo. V zvezi z določenimi motnjami spanja obstajajo tudi dokazi, da imajo shizofreni bolniki večje tveganje za doživetje motenj povezanih s spanjem, kot so motnje dihanja (Cohrs, 2008).

Spremembe spanja so povezane tudi s stopnjo resnosti simptomov. Pozitivni simptomi shizofrenije so povezani s kratko REM latenco in večjo gostoto REM faze spanja, zmanjšano učinkovitostjo spanja in zvišano latenco spanca. Negativni simptomi, kot so oslabitve pri delu, družbenih odnosih in kognitivnih sposobnostih, so povezani s primanjkljajem v fazi globokega spanca in kratke REM latence (Krystal idr., 2008).

Bolniki s shizofrenijo imajo lahko motnje spanja tudi ko so klinično stabilni in se zdravijo z antipsihotiki. V primerjavi z zdravimi osebami, bolniki s shizofrenijo poročajo o povečani latenci spanja, časa v postelji in skupnega časa spanja. Poročajo o zmanjšani učinkovitosti spanja, zmanjšanemu zadovoljstvu in občutku jutranje spočitosti. Nespečnost ob nastopu spanja je trajna motnja pri bolnikih, ki niso hospitalizirani in pri bolnikih, ki so klinično stabilni. Le-ti poročajo o večji nagnjenosti k spanju in o normalnem zadovoljstvu

s spancem. Zdravljenje z antipsihotiki lahko glede na rezultate raziskav izboljša kvaliteto spanca pri osebah s shizofrenijo (Poulin, Chouinard, Pampoulova, Lecomte, Stip in Godbout, 2010). Zdravljenje s tipičnimi antipsihotiki poveča učinkovitost spanja in skupni čas spanja (Cohrs, 2008).



*Slika 7. Zaprta faza spanja pri shizofreniji: aktivnost v počitku in hipnograma dveh ljudi, ki ponazarjajo normalno in moteno cirkadiano vedenje (povzeto po Wulff idr., 2010, str. 7).*

Slika 7 prikazuje: (a) cikel počitka in aktivnosti, posnet z uporabo zapestnih aktigrafov (ang. wrist actigraphs). Vsaka vrstica predstavlja en dan (24 ur), z začetkom ob 9:00 uri. Z zeleno barvo je označeno spanje v normalnem obsegu, od 23:00 do 7:00 ure.

(b) Elektroencefalografija (EEG); snemanje preko noči, predstavljena je normalna struktura spanca. Hipnogram prikazuje vzorec možganske aktivnosti, ki vključuje štiri osnovne stadije budnosti (budenje je označeno z rdečo barvo; NREM stadij 1 in NREM stadij 2 sta označena z rumeno, globok spanec z zeleno in REM spanje z modro barvo. Levo spodaj (c) je prikazana aktivnost osebe s shizofrenijo. Prikazana je razkrojenost cirkadianega ritma z zapoznelo fazo spanja (začetek spanca je ob 4:00 in 6:00 uri, zbujanje okoli 15:00 in 16:00 ure večino dni). Desno spodaj (d) je predstavljen hipnogram 49 letnega bolnika s shizofrenijo. Viden je daljši potek spanja, manj budnega stanja v primerjavi z normalno strukturo in krajša REM faza spanja, označena z modro barvo. Pri normalni strukturi spanca (b) ni opazne zmanjšane gostote REM spanja. Vidne spremembe so tudi v fazi globokega spanca, ki je označen z zeleno barvo. Zmanjšana faza globokega spanca je velikokrat opazna pri bolnikih s shizofrenijo (Wulff idr., 2010).

## 5.2 Skupni genetski in molekularni mehanizmi shizofrenije in motenosti spanja ter cirkadianega sistema

V GWAS študijah so nekatere gene, ki so najverjetneje povezani z razvojem shizofrenije, povezali tudi s spancem in/ali regulacijo dnevno-nočnih ritmov.

Različice gena DISC1 (Disrupted in schizophrenia 1) so bile povezane z anhedonijo (nezmožnost doživljanja zadovoljstva) in homeostatskim uravnavanjem spanja pri živalskih modelih. Polimorfizem cikličnega AMP (cAMP), 3',5'-ciklična fosfodiesteraza 4D (PDE4D) je bila povezana z doživljanjem zaspanosti in s shizofrenijo. T3111C SNP (single-nucleotide-polymorphisms) človeškega CLOCK gena je bil povezan z nenormalnim delovanjem in sproščanjem dopamina in prav tako s shizofrenijo.

Protein SNAP25 je specifičen SNAP proteinski receptor za nevrone (SNARE), ki je ključnega pomena za normalno sinaptično sproščanje iz presinaptičnih živčnih končičev. Dokazano je bilo, da igra tudi pomembno vlogo pri svetlobni signalizaciji v cirkadianem sistemu. SNAP25 je bil povezan s shizofrenijo preko genetskega združevanja in analize povezav (ang. linkage analysis). Ravni SNAP25 so bile v hipokampusu bolnikov s shizofrenijo zmanjšane (Wulff idr., 2010).

Genetske študije so pokazale tudi vpletenost večjega števila proteinov v glutamateri sinaptični prenos, zaradi česar se shizofrenija pogosto šteje med bolezni sinapse. Študije dveh mišjih mutantov sinaptičnih proteinov, vazoaktivnega intestinalnega polipeptidnega (VIP) receptorja 2 (Vipr2) in eksocitotskega sinaptičnega proteina SNAP25 kažeta na močne povezave s cirkadianim sistemom (Jagannath idr., 2013).

Študije narejene po smrti shizofrenih oseb so pokazale zmanjšano izražanje PER1 mRNA v senčnem režnju. Ugotovitev potrjuje hipotezo, da je shizofrenija povezana z nepravilnostmi v oligodendrogliji in kaže na morebitno vlogo epigenetskih mehanizmov pri spremembah v cirkadianem ritmu motnje (Aston, Jiang in Sokolov, 2004).

Ostale ugotovitve vključujejo povezave med PER3 in TIMELESS, ki so bile ugotovljene pri bolnikih s shizofrenijo, bolnikih s shizoafektivno motnjo in pri osebah z bipolarno motnjo (Mansour idr., 2006). PER3 lahko vpliva na PER1 in PER2 preko interakcije in s tem ureja jedrno translokacijo njune mPER1 in mPER2 (Dueck, Thome in Haessler, 2012).

Pred nekaj leti je bil gen citokrom1 (CRY1) predpostavljen kot kandidatni gen za shizofrenijo zaradi svoje lokacije blizu tarčne točke shizofrenije, 12q24. Izražen je v dopaminergičnih celicah v retini (Lamont, Legault-Coutu, Cermakian in Boivin, 2007), vpliva na učinke psihoaktivnih zdravil in se nahaja na kromosomskih regijah 12q23-q24.1. Odgovoren je pretežno za uravnavanje delovanja cirkadiane ure. Nedavne raziskave so

pokazale tudi, da je CRY1 v interakciji z antipsihotiki in dopaminskim sistemom (Peng, Chen in Wei, 2007).

PER3 vsebuje redek polimorfizem v svoji kodni regiji (spremenljivo število tandemskih ponovitev, VNTR), ki je najverjetneje povezano s sindromom zakasnjene faze spanja. Ponavljajoči-se polimorfizmi hPER3 igrajo vlogo pri razvoju simptomov povezanih s shizofrenijo preko vpliva na izločanje kortikalnega hormona (Dueck idr., 2012). Izločanje kortikosteroidov je na splošno pri bolnikih s shizofrenijo višje od normalnega (Walker in Diforio, 1997).

Do sedaj so veliko genov povezali s shizofrenijo in njenimi endofenotipi preko kombinacij genetskih študij, analiz povezav med geni in ocen njihove biološke verodostojnosti. Najbolj uveljavljeni kandidatni geni za shizofrenijo so do sedaj Nrg1, Akt1, Disc1, Grm3, Dao, Comt, Dtnbp1, ErbB4, Snap-25, Vipr2, Cckar, Gsk3b, Pde4d, Tcf4, MIR137 in ZNF804A. Spanje in cirkadiano delovanje je bilo do sedaj odkrito v štirih izmed naštetih genov, in sicer SNAP25, Vipr2, Nrg1 in Cckar. V vseh štirih primerih je bilo pri živalskih modelih opaziti tudi motnje spanja in cirkadianega ritma (Pritchett idr., 2012).

### **5.2.1 SNAP-25** (slepo-pijan mutant, mišji model; ang. blind-drunk mutant ; Bdr)

Mišji model z dominantno mutacijo SNAP-25 eksocitotskega neravnovesja kaže s shizofrenijo povezane endofenotipe, ki so uravnavani preko stresa iz okolja. Slepo-pijani mutanti kažejo tudi motnje v cirkadiani organizaciji, ki še posebej vpliva na končno delovanje suprakiazmalnega jedra (Pritchett idr., 2012).

Dnevni ritmi arginin vazopresina (Avp) v suprakiazmalnem jedru in plazme kortikosterona sta izrazito napredna v fazah delovanja pri Bdr miših. Podatki kažejo, da cirkadiani fenotip Bdr miši izhaja iz motenj v sinaptičnih povezavah suprakiazmalnega jedra, ki ima za posledico ključno spremenjene izhodne signale. Podatki zagotavljajo obstoj povezave med porušeno krožno cirkadiano aktivnostjo in motenostjo sinaptičnega delovanja (Oliver idr., 2012).

Povezava med motnjami v cirkadiani aktivnosti in sinaptičnih motnjah, povzročenih zaradi SNAP-25 motenj torej ni zanemarljiva. Skupno gledano študije na SNAP-25 kažejo, da so spremembe v SNAP-25 delovanju osnova nekaterih simptomov pri shizofreniji, zlasti tistih, ki so povezani z dnevno-nočnimi ritmi (Monti idr., 2013).

### **5.2.2 VIPR2**

Nedavne študije so pokazale, da Vipr2 podvaja vpliv za razvoj shizofrenije (Vacic idr., 2011). Vazoaktivni intestinalni polipeptid (VIP) in njegov receptor, Vipr2 (VPAC2) imata ključno vlogo v suprakiazmalnem jedru. Slikanje v realnem času cirkadianega genskega izražanja v rezinah suprakiazmalnega jedra je pokazalo, da je VPAC2 receptor potreben za

vzdrževanje cirkadianega nihanja v nevronih suprakiazmalnega jedra in za sinhronizacijo nihanja med temi nevroni. Vipr2 miši z izbitim genov kažejo cirkadiane nepravilnosti, vključno s skrajšanim cirkadianim obdobjem, v trajanju približno 22 ur. Primanjkljaj opažen pri miših mora biti posledica delovanja v suprakiazmalnem jedru ali v njegovih rezultatih (Pritchett idr., 2012).

### 5.2.3 NRG1

Nevregulin 1 (NRG1) je rastni dejavnik, vključen v nevrološki razvoj in plastičnost, ki je bila povezana s shizofrenijo (Harrison in Law, 2006; Mei in Xiong, 2008) in shizotipsko osebnostno motnjo pri adolescentih (Lin, Liu, Liu, Hung, Hwu in Chen, 2005).

Izražanje Nrg1 je v možganih bolnikov s shizofrenijo povečano. Prav tako heterozigotne miši za motnje v Nrg1 genov kažejo na njeno vključeno v motnje ritmov aktivnost in počitka. Nrg1 je izražen v suprakiazmalnem jedru in gangljijskih celicah v očesni mrežnici, kar je skladno z ugotovitvijo, da je Nrg1 vpleten v cirkadiano delovanje (Pritchett idr., 2012).

### 5.2.4 CCKAR

Holecistokininski A receptor (CCK-AR) je G-protein sklopljen receptor, ki veže neuropeptid holecistokinin (CCK). Nenormalne ravni CCK mRNA so bile opažene v možganih bolnikov s shizofrenijo in številne študije so poročale o povezavi med CCKAR genom in shizofrenijo. Dopamin deluje kot posredovalec v razmerju med CCK in shizofrenijo, saj CCK-AR uravnava CCK povzročeno sproščanje dopamina v mezolimbicnem sistemu. Odkrili so tudi dokaze, ki kažejo na vlogo CCK pri uravnavanju spanja. Intraperitonealna administracija CCK spodbuja globok spanec in zavira gibalno aktivnost pri podganah (Pritchett idr., 2012).

### 5.2.5 Urni (CLOCK) geni

Dokazi, ki povezujejo polimorfizme cirkadianih urnih genov ali njihovo motenost je omejeno na le nekaj študij. CLOCK gen je pritegnil pozornost predvsem zaradi svojega vpliva na cirkadiani ritem in učinkov na dopaminergični sistem (Lamont idr., 2007).

Takao, Tachikawa, Kawanishi, Mizukami in Asada (2007) so v preliminarni študiji pokazali, da je T3111C polimorfizem gena CLOCK povezan s shizofrenijo. Poudarili so pomembnost nadaljnjih raziskav med CLOCK genom in dopaminskim delovanjem, ter preučevanja vpliva urnih genov na fenotipe, kot so simptomi shizofrenije in odzivi na zdravila.



Polimorfizem v povezavi z dopaminskim prenosom v suprakiazmalnem jedru je osnova za patofiziologijo shizofrenije, saj je dopaminsko signaliziranje preko D<sub>2</sub> receptorjev povezano s povečano aktivnostjo CLOCK:BMAL1. Ugotovitev predstavlja zanimivo povezavo med dopaminergično hipotezo shizofrenije in cirkadianimi motnjami teh bolnikov (Yujnovski, Hirayama, Doi, Borrelli in Sassone-Corsi, 2006).

CLOCK geni so vključeni tudi v uravnavanje antropomorfnih parametrov pri bolnikih s shizofrenijo med dolgotrajnim zdravljenjem z antipsihotiki druge generacije (Moons idr., 2011).

### 5.3 Metodološke težave tovrstnih raziskav

Povezava med urnimi geni in shizofrenijo ostaja sporna, saj so imele študije, ki so potrdile povezavo manjše vzorce (okoli 150 bolnikov), od tistih, ki so potrebne za genetske asociacijske študije. Poleg tega večje študije do sedaj še niso uspele potrditi začetnih ugotovitev. Morebitna povezava med določenim podtipom shizofrenije in katerega izmed urnih genov še zdaleč ni razrešena (Monti idr., 2013).

Del problema pri ugotavljanju posebnih mehanističnih povezav med spanjem in motenostjo cirkadianega ritma možganskih motenj je, da obstajajo velike razlike med posameznimi fenotipi. Dodaten problem je tudi v pomanjkanju dolgoročnega in kvantitativnega merjenja motenosti spanja in cirkadianega ritma pri duševnih in možganskih motnjah. Bolniki z določeno diagnozo enake starosti in spola, ki jemljejo ista zdravila, se lahko razlikujejo glede na resnost motenj spanja in razkrojenosti cirkadianega ritma (Wulff idr., 2010).

Študije spanja pri bolnikih s shizofrenijo do sedaj niso uspele priti do skladnih ugotovitev. K tej nedoslednosti in neskladnosti prispevajo predvsem metodološke pomanjkljivosti.

Motnje cirkadianega ritma so lahko ovrednotene z uporabo zapestnih aktimetričnih posnetkov, vzorcev urina ali krvi, zbrane slin v večernih urah. Običajno vzamejo pet vzorcev v enournih intervalih pod mračno lučjo za določitev melatonina, ki se uporablja kot označevalec cirkadiane faze. Aktimetrični posnetki in vzorci slin so s strani bolnikov dobro sprejete oblike zbiranja podatkov, vendar ti načini zahtevajo tudi visoko skladnost, saj se morajo pridobljeni podatki dnevno-nočnih ciklov zbirati vsaj dva tedna, po možnosti pod običajnimi pogoji, da se izključijo drugi vplivi. Zaradi tega so bili do sedaj v raziskave cirkadianega ritma vključeni predvsem bolniki, ki so se zdravili z antipsihotiki (Monti, idr., 2013).

## 6 SKLEP

Bolniki s shizofrenijo pogosto poročajo o motnjah v nastopu in poteku spanca. Motnje spanja se kažejo pri 30-80 % bolnikov s shizofrenijo in predstavljajo pomemben del bolezni z nevrobiološkega vidika.

Cilj zaključne naloge je bil ugotoviti povezave med motnjami spanja in cirkadianega ritma in shizofrenijo. Ključna je bila usmeritev na evalvacijo genetskih povezav in razumevanje trenutno poznanih molekularnih mehanizmov motenj cirkadianega ritma spanja in shizofrenije ter njuno prekrivanje.

Osnovna ugotovitev je, da se motnje spanja pogosto pojavljajo pri številnih nevropsiholoških boleznih, vključno s shizofrenijo. Natančni mehanizmi so še nejasni, etiologija je slabo razumljena in velikokrat ni upoštevana. Opravljenih je bilo veliko genetskih študij in analiz povezav, ki so s shizofrenijo povezali veliko genov in njenih endofenotipov. Spanje in cirkadiano delovanje je bilo povezano z nekaterimi kandidatnimi geni za shizofrenijo. Povezava ostaja sporna zaradi manjših vzorcev, ki po navadi štejejo okoli sto bolnikov.

Sočasna pojavnost kaže na spremenjene osnovne mehanizme in poti delovanja tako pri shizofreniji kot pri motnjah spanja. Psihiatrične bolezni in motnje spanja ter dnevno-nočni ritmi imajo skupne in prekrivajoče-se mehanizme, ki se medsebojno krepijo. Tako napake v prenosu nevrottransmitterjev, nevrološkem razvoju in kognitivne ali zdravstvene težave negativno vplivajo na spanje in povečajo razkrojenost cirkadianega ritma spanja. Stres, socialna izolacija in zdravila, ki jih oseba jemlje zaradi duševne motnje, prispevajo k nadaljnji motenosti dnevno-nočnih ritmov. Bolniki dajejo tekom zdravljenja velik pomen izboljšanju spanja, ki je poleg (so)delovanja v družbi in izobraževanju o svoji bolezni zanje ena izmed najpomembnejših nalog, ki bi jo bilo treba med zdravljenjem olajšati. V prihodnosti bi bila nujna večja usmeritev v lajšanje tovrstnih težav bolnikov.

Ključno vprašanje, ali zdravljenje motenj spanja pri shizofreniji dolgoročno vpliva na kakovost življenja, delovanje v družbi in potek bolezni je potrebno še sistematično preučiti. Podatki kažejo na verjetnost, da ima zdravljenje motenj spanja pozitiven vpliv na bolnike s shizofrenijo. Verjetnost uspešnega zdravljenja je večja, če so težave s spanjem in komorbidna duševna motnja, shizofrenija, zdravljeni sočasno. Namen kliničnih študij je izboljšanje socialnega delovanja bolnikov s shizofrenijo in izboljšanje njihovega zadovoljstva z življenjem. Za doseg tega cilja je fiziološki spanec ključnega pomena. Trenutni podatki dajejo dobro osnovo za nadaljevanje raziskav, ki bi pomagale ovrednotiti, v kolikšni meri je lahko zdravljenje težav spanja bolnikov s shizofrenijo tudi klinično relevantno. Dolgoročne študije bi morale raziskati ali je motenost spanja le značilen

simptom shizofrenije in ali motenost spanja vpliva tudi na celoten potek in prognozo bolezni.

Temeljni izziv za raziskovanje je, da motnje spanja in shizofrenijo ne povzročata samo en sam dogodek, genetska mutacija ali motnja v nevrottransmitterskem delovanju. Preučevanja se je treba lotiti na celosten način, z vključitvijo genetskih, molekularnih, fizioloških pristopov in kliničnih študij, ki temeljijo na raziskovanju zadovoljstva z življenjem.

## 7 VIRI

Abdolmaleky, H.M., Thiagalingam, S. in Wilcox, M. (2005). Genetics and epigenetics in major psychiatric disorders: Dilemmas, achievements, applications, and future scope. *American Journal of Pharmacogenomics*, 5 (3), 149-160.

Akbarian, S., Ruehl, M.G., Bliven, E., Luiz, L.A., Peranelli, A.C., Baker, S.P., Roberts, R.C., Bunney, W.E. Jr, Conley, R.C., Jones, E.G., Tamminga, C.A. in Guo, Y. (2005). Chromatin alterations associated with down-regulated metabolic gene expression in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, 62 (8), 829-840.

Alarcon, J.M., Malleret, G., Touzani, K., Vronskaya, S., Ishi, S., Kandel, E.R. in Barco, A. (2004). Chromatin acetylation, memory, and LTP are impaired in CBP +/- mice: A model for the cognitive deficit in Rubinstein-Taybi syndrome and its amelioration. *Neuron*, 42 (6), 947-959.

Andreasen, N.C. (2010). The lifetime trajectory of schizophrenia and the concept of neurodevelopment. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 12 (3), 409–415.

Arendt, J. in Skene, D.J. (2005). Melatonin as a chronobiotic. *Sleep Medicine Reviews*, 9 (1), 25-39.

Aston, C., Jiang, L. in Sokolov, B.P. (2004). Microarray analysis of postmortem temporal cortex from patients with schizophrenia. *Journal of Neuroscience Research*, 77 (6), 858–866.

Auslander, L.A. in Jeste, D.V. (2002). Perceptions of problems and needs for service among middle-aged and elderly outpatients with schizophrenia and related psychotic disorders. *Community Mental Health Journal*, 38 (5), 391–402.

Bird, A. (2002). DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes & Development*, 16 (1), 6-21.

Borbély, A.A. (1982). A two process model of sleep regulation. *Human Neurobiology* 1 (3), 195–204.

Cannon, T.D., Kaprio, J., Lönnqvist, J., Huttunen, M. in Koskenvuo, M. (1998). The Genetic Epidemiology of Schizophrenia in a Finnish Twin Cohort: A Population-Based Modeling Study. *Archives of General Psychiatry*, 55 (1), 67-74.

Cardno, A.G. in Gottesman, I.I. (2000). Twin studies of schizophrenia: From bow-and-arrow concordances to Star Wars Mx and functional genomics. *American Journal of Medical Genetics*, 97 (1), 12–17.

Cardno, A.G., Marshall, E.J., Coid, B., Macdonald, A.M., Ribchester, T.R., Davies, N.J., Venturi, P., Jones, L.A., Lewis, S.W., Sham, P.C., Gottesman, I.I., Farmer, A.E., McGuffin, P., Reveley, A.M. in Murray, R.M. (1999). Heritability estimates for psychotic disorders: the Maudsley twin psychosis series. *Archives of General Psychiatry*, 56 (2), 162–8.

Chahrour, M., Jung, S.Y., Shaw, C., Zhou, X., Wong, S.T., Qin, J. in Zoghbi, H.Y. (2008). MeCP2, a key contributor to neurological disease, activates and represses transcription. *Science*, 320 (5880), 1224-9.

Cheung I., Jakovceviski M. in Akbarian S. (2012). The epigenetics of schizophrenia. V Brown A.S. in Patterson P.H. (ur.), *The origins of schizophrenia (227-252)*. New York: Columbia University Press.

Cohen, S., Zhou, Z. in Greenberg, M.E. (2008). Medicine. Activating a repressor. *Science*, 320 (5880), 1172-3.

Cohrs, S. (2008). Sleep disturbances in patients with schizophrenia: impact and effect of antipsychotics. *CNS Drugs*, 22 (11) , 939–962.

Colvis, C.M., Pollock, J.D., Goodman, R.H., Impey, S., Dunn, J., Mandel, G., Champagne, F.A., Mayford, M., Korzus, E., Kuman, A., Rental, W., Theobald, D.E. in Nestler, E.J. (2005). Epigenetic mechanisms and gene networks in the nervous system. *Journal of Neuroscience* 25 (45), 10379-10389.

Cornelis, M.C., Agrawal, A., Cole, J.W., Hansel, N.N., Barnes, K.C., Beaty, T.H., Bennett, S.N., Bierut, L.J., Boerwinkle, E., Doheny, K.F., Feenstra, B., Feingold, E., Fornage, M., Haiman, C.A., Harris, E.L., Hayes, M.G., Heit, J.A., Hu, F.B., Kang, J.H., Laurie, C.C., Ling, H., Manolio, T.A., Marazita, M.L., Mathias, R.A., Mirel, D.B., Paschall, J., Pasquale, L.R., Pugh, E.W., Rice, J.P., Udren, J., van Dam, R.M., Wang, X., Wiggs, J.L., Williams, K. in Yu, K. (2010). The gene, environment association studies consortium (GENEVA): maximizing the knowledge obtained from GWAS by collaboration across studies of multiple conditions. *Genetic Epidemiology*, 34 (4), 364–372.

Dijk, D.J. in Duffy, J.F. (1999). Circadian regulation of human sleep and age-related changes in its timing, consolidation and EEG characteristics. *Annals of Medicine*, 31 (2), 130-140.

Dueck, A., Thome, J. in Haessler, F. (2012). The role of sleep problems and circadian clock genes in childhood psychiatric disorders. *Journal of Neuronal Transmission*, 119 (10), 1097-1104.

Felsenfeld, G. in Groudine, M. (2003). Controlling the double helix. *Nature*, 421 (6921), 448-453.

Feder, A., Nestler, E.J. in Charney, D.S. (2009). Psychobiology and molecular genetics of resilience. *Nature Rev. Neurosci*, 10, 446–457.

Gilbert, S.S., van den Heuvel, C.J., Kennaway, D.J. in Dawson, D. (1999). Peripheral heat loss: a predictor of the hypothermic response to melatonin administration in young and older women. *Physiology & Behavior*, 66 (2), 365-370.

Goldstein, D.B. (2009). Common genetic variation and human traits. *New England Journal of Medicine*, 360 (17), 1696-1698.

Guan, Z., Giustetto, M., Lomvardas, S., Kim, J.H., Miniaci, M.C., Schwartz, J.H., Thanos, D. in Kandel, E.R. (2002). Integration of long-term-memory-related synaptic plasticity involves bidirectional regulation of gene expression and chromatin structure. *Cell*, 111 (4), 483-493.

Harrison, P.J. in Law, A.J. (2006). Neuregulin 1 and schizophrenia: genetics, gene expression, and neurobiology. *Biological Psychiatry*, 60 (2), 132–140.

Hirayama, J. in Sassone-Corsi, P. (2005). Structural and functional features of transcription factors controlling the circadian clock. *Current Opinion in Genetics & Development*, 15 (5), 548–556.

Hofstetter, J.R., Lysaker, P.H. in Mayeda, A.R. (2005). Quality of sleep in patients with schizophrenia is associated with quality of life and coping. *BMC Psychiatry*, 5, 13.

Huang, H.S. in Akbarian, S. (2007). GAD1 mRNA expression and DNA methylation in prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *PLoS One*, 2 (8), e809.

Huang, H.S., Matevossian, A., Whittle, C., Kim, S.Y., Schumacher, A., Baker, S.P. in Akbarian, S. (2007). Prefrontal dysfunction in schizophrenia involves mixed-lineage leukemia 1-regulated histone methylation at GABAergic gene promoters. *Journal of Neuroscience*, 27 (42), 11254-11262.

Huang, H.S., Matevossian, A., Jiang, Y. in Akbarian, S. (2006). Chromatin immunoprecipitation in postmortem brain. *Journal of Neuroscience Methods*, 156 (1-2), 282-292.

Ingraham, L.J. in Kety, S.S. (2000). Adoption studies of schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics*, 97 (1), 18– 22.

Jagannath A., Peirson, S. N., Foster, R.G. (2013). Sleep and circadian rhythm disruption in neuropsychiatric illness. *Current Opinion in Neurobiology*, 23 (5), 888–894.

Kaminsky, Z., Wang, S.C. in Petronis, A. (2006). Complex disease, gender and epigenetics. *Annals of Medicine*, 38 (8), 530-544.

Karatsoreos I.N. (2014). Links between circadian rhythms and psychiatric disease. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 8, 162.

Karayorgou, M. in Gogos, J.A. (2006). Schizophrenia genetics: Uncovering positional candidate genes. *European Journal of Human Genetics*, 14 (5), 512-519.

Karayorgou, M., Levy, R.J. in Xu, B. (2012). Genetic architecture of schizophrenia: the contribution of copy number variation. V Brown A.S. in Patterson P.H. (ur.), *The origins of schizophrenia*, (210-226). New York: Columbia University Press.

Korzus, E., Rosenfeld, M.G., in Mayford, M. (2004). CBP histone acetyltransferase activity is a critical component of memory consolidation. *Neuron*, 42 (6), 961-972.

Krueger, J.M., Rector, D.M., Roy, S., Van Dongen, H.P., Belenky, G. in Panksepp, J. (2008). Sleep as a fundamental property of neuronal assemblies. *Nature Reviews Neuroscience*, 9 (12), 910-919

Kryger, M.H., Roth, T. in Dement, W.C. (2011). *Principles and Practice of Sleep Medicine*, 5th ed. Missouri: Elsevier.

Krystal, A.D., Thakur, M. in Roth, T. (2008). Sleep disturbance in psychiatric disorders: effects on function and quality of life in mood disorders, alcoholism, and schizophrenia. *Annals of Clinical Psychiatry*, 20 (1), 39–46.

Lamont, E. W., Legault – Coutu, D., Cermakian, N. in Boivin D. B. (2007). The role of circadian clock genes in mental disorders. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 9 (3), 333-342.

Laruelle, M., D'Souza, C.D., Baldwin, R.M., Abi-Dargham, A., Kanes, S.J., Fingado, C.L., Seibyl, J.P., Zoghbi, S.S., Bowers, M.B., Jatlow, P., Charney, D.S. in Innis, R.B. (1997).

Imaging D<sub>2</sub> receptor occupancy by endogenous dopamine in humans.

*Neuropsychopharmacology*, 17 (3), 162-174.

Laruelle, M., Jaskiw, G.E., Lipska, B.K., Kolachana, B., Casanova, M.F., Kleinman, J.E. in Weinberger, D.R. (1992). D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> receptor modulation in rat striatum and nucleus accumbens after subchronic and chronic haloperidol treatment. *Brain Research*, 575 (1), 47-56.

Laviola, G., Ognibene, E., Romano, E., Adriani, W. in Keller, F. (2009). Gene-environment interaction during early development in the heterozygous reeler mouse: Clues for modelling of major neurobehavioral syndromes. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 33 (4), 560-572.

Li, J., Guo, Y., Schroeder, F.A., Youngs, R. M., Schmidt, T.W., Ferris, C., Konradi, C., in Akbarian, S. (2004). Dopamine D<sub>2</sub>-like antagonists induce chromatin remodeling in striatal neurons through cyclic AMP-protein kinase A and NMDA receptor signaling. *Journal of Neurochemistry*, 90 (5), 1117-1131.

Lin, H.F., Liu, Y.L., Liu, C.M., Hung, S.I., Hwu, H.G. in Chen, W.J. (2005). Neuregulin 1 gene and variations in perceptual aberration of schizotypal personality in adolescents. *Psychological Medicine*, 35 (11), 1589–1598.

Lincoln, G.A. (2006). Decoding the nightly melatonin signal through circadian clockwork. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 252 (1-2), 69-73.

Macchi, M.M. in Bruce, J.N. (2004). Human pineal physiology and functional significance of melatonin. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 25 (3-4), 177–195.

Mansour, H.A., Wood, J., Logue, T., Chowdari, K.V., Dayal, M., Kupfer, D.J., Monk, T.H., Devlin, B. in Nimgaonkar, V.L. (2006). Association study of eight circadian genes with bipolar I disorder, schizoaffective disorder and schizophrenia. *Genes, Brain and Behavior*, 5 (2), 150–157.

Martin, K.C. in Sun, Y.E. (2004). To learn better, keep the HAT on. *Neuron*, 42 (6), 879-881.

Mei, L. in Xiong, W.C. (2008). Neuregulin 1 in neural development, synaptic plasticity and schizophrenia. *Nature Reviews Neuroscience*, 9 (6), 437–452.

Miranda, T.B. in Jones, P.A. (2007). DNA methylation: the nuts and bolts of repression. *Journal of Cellular Physiology*, 213 (2), 384-390.



Monteleone, P., Natale, M., La Rocca, A. in Maj, M. (1997). Decreased nocturnal secretion of melatonin in drug-free schizophrenics: no change after subchronic treatment with antipsychotics. *Neuropsychobiology*, 36 (4), 159–163.

Monti, J.M., BaHammam, A.S., Pandi-Perumal, S.R., Bromundt, V., Spence, D.W., Cardinali, D.P. in Brown, G.M. (2013). Sleep and circadian rhythm dysregulation in schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 43, 209-216.

Moons, T., Claes, S., Martens, G.J., Peuskens, J., van Loo, K.M., van Schijndel, J.E., de Hert, M. in van Winkel, R. (2011). Clock genes and body composition in patients with schizophrenia under treatment with antipsychotic drugs. *Schizophrenia Research*, 125 (2-3), 187–193.

Nestler, E.J., Hyman, S.E. in Malenka R.C. (2009). *Molecular neuropharmacology: a foundation for clinical neuroscience*. McGraw-Hill Medical.

Oh, G. in Petronis, A. (2008). Environmental studies of schizophrenia through the prism of epigenetics. *Schizophrenia Bulletin*, 34 (6), 1122 – 1129.

Oliver, P.L., Sobczyk, M.V., Maywood, E.S., Edwards, B., Lee, S., Livieratos, A., Oster, H., Butler, R., Godinho, S.I., Wulff, K., Peirson, S.N., Fisher, S.P., Chesham, J.E., Smith, J.W., Hastings, M.H., Davies, K.E. in Foster, R.G. (2012). Disrupted circadian rhythms in a mouse model of schizophrenia. *Current Biology*, 22 (4), 314–319.

Owen, M.J., Williams, N.M. in O'Donovan, M.C. (2004). The molecular genetics of schizophrenia: newfindings promise new insights. *Molecular Psychiatry*, 9 (1), 14-27.

Peng, Z.W., Chen, X.G. in Wei, Z. (2007). Cryptochrome1 maybe a candidate gene of schizophrenia. *Medical Hypotheses*, 69 (4), 849–851.

Porkka-Heiskanen, T., Strecker, R.E., Thakkar, M., Bjorkum, A.A., Greene, R.W. in McCarley, R.W. (1997). Adenosine: A mediator of the sleep-inducing effects of prolonged wakefulness. *Science*, 276 (5316), 1265–1268.

Poulin, J., Chouinard, S., Pampoulova, T., Lecomte, Y., Stip, E. in Godbout, R. (2010). Sleep habits in middle-aged, non-hospitalized men and women with schizophrenia: a comparison with healthy controls. *Psychiatry Research*, 179 (3), 274–278.

Pritchett, D., Wulff, K., Oliver, P.L., Bannerman, D.M., Davies, K.E., Harrison P.J., Peirson S.N., Foster R.G. (2012). Evaluating the links between schizophrenia and sleep and circadian rhythm disruption. *Journal of Neural Transmission*, 119 (10), 1061–1075.

Purcell, S.M., Wray, N.R., Stone, J.L., Visscher, P.M., O'Donovan, M.C., Sullivan, P.F. in Sklar, P. (2009). Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature*, 460 (7256), 748–752.

Rajaratnam, S.M., Polymeropoulos, M.H., Fisher, D.M., Roth, T., Scott, C., Birznieks, G. in Klerman, E.B. (2009). Melatonin agonist tasimelteon (VEC-162) for transient insomnia after sleeptime shift: two randomised controlled multicentre trials. *Lancet*, 373 (9662), 482-491.

Reppert, S.M. in Weaver, D.R. (2001). Molecular analysis of mammalian circadian rhythms. *Annual Review of Physiology*, 63, 647–76.

Roth, T.L., Lubin, F.D., Funk, A.J. in Sweatt, J.D. (2009). Lasting epigenetic influence of early-life adversity on the BDNF gene. *Biological Psychiatry*, 65 (9), 760-769.

Roth, T.L., Lubin, F.D., Sodhi, M. in Kleinman, J.E. (2009). Epigenetic mechanisms in schizophrenia. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1790 (9), 869–877.

Sanders, A.R., Duan, J. in Gejman P.V. (2012). Schizophrenia genetics: what have we learned from Genomewide Association Studies?. V Brown A.S. in Patterson P.H. (ur.), *The origins of schizophrenia* (176-209). New York: Columbia University Press.

Sanders, A.R., Duan, J., Levinson, D.F., Shi, J., He, D., Hou, C., Burrell, G.J., Rice, J.P., Nertney, D.A., Olincy, A., Rozic, P., Vinogradov, S., Buccola, N.G., Mowry, B.J., Freedman, R., Amin, F., Black, D.W., Silverman, J.M., Byerley, W.F., Crowe, R.R., Cloninger, C.R., Martinez, M. in Gejman, P.V. (2008). No significant association of 14 candidate genes with schizophrenia in a large European ancestry sample: Implications for psychiatric genetics. *American Journal of Psychiatry*, 165 (4), 497-506.

Sharma, R.P., Grayson, D.R. in Gavin, D.P. (2008). Histone deacetylase 1 expression is increased in the prefrontal cortex of schizophrenia subjects: analysis of the National Brain Databank microarray collection. *Schizophrenia Research*, 98 (1-3), 111-117.

Shi, J., Levinson, D.F., Duan, J., Sanders, A.R., Zheng, Y., Pe'er, I., Dudbridge, F., Holmans, P.A., Whittemore, A.S., Mowry, B.J., Olincy, A., Amin, F., Cloninger, C.R., Silverman, J.M., Buccola, N.G., Byerley, W.F., Black, D.W., Crowe, R.R., Oksenberg, J.R., Mirel, D.B., Kendler, K.S., Freedman, R. in Gejman, P.V. (2009). Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia. *Nature*, 460 (7256), 753–757.

Silber, M.H., Ancoli-Israel, S., Bonnet, M.H., Chokroverty, S., Grigg-Damberger, M.M., Hirshkowitz, M., Kapen, S., Keenan, S.A., Kryger, M.H., Penzel, T., Pressman, M.R. in Iber, C. (2007). The visual scoring of sleep in adults. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 3 (2), 121–31.

Stadler, F., Kolb, G., Rubusch, L., Baker, S.P., Jones, E.G. in Akbarian, S. (2005). Histone methylation at gene promoters is associated with developmental regulation and region-specific expression of ionotropic and metabotropic glutamate receptors in human brain. *Journal of Neurochemistry*, 94 (2), 324-336.

Stefansson, H., Ophoff, R.A., Steinberg, S., Andreassen, O.A., Cichon, S., Rujescu, D., Werge, T., Pietiläinen, O.P., Mors, O., Mortensen, P.B., Sigurdsson, E., Gustafsson, O., Nyegaard, M., Tuulio-Henriksson, A., Ingason, A., Hansen, T., Suvisaari, J., Lonnqvist, J., Paunio, T., Borglum, A.D., Hartmann, A., Fink-Jensen, A., Nordentoft, M., Hougaard, D., Norgaard-Pedersen, B., Böttcher, Y., Olesen, J., Breuer, R., Möller, H.J., Giegling, I., Rasmussen, H.B., Timm, S., Mattheisen, M., Bitter, I., Rethelyi, J.M., Magnusdottir, B.B., Sigmundsson, T., Olason, P., Masson, G., Gulcher, J.R., Haraldsson, M., Fossdal, R., Thorgeirsson, T.E., Thorsteinsdottir, U., Ruggeri, M., Tosato, S., Franke, B., Strengman, E., Kiemenev, L.A., Melle, I., Djurovic, S., Abramova, L., Kaleda, V., Sanjuan, J., de Frutos, R., Bramon, E., Vassos, E., Fraser, G., Ettinger, U., Picchioni, M., Walker, N., Touloupoulou, T., Need, A.C., Ge, D., Yoon, J.L., Shianna, K.V., Freimer, N.B., Cantor, R.M., Murray, R., Kong, A., Golimbet, V., Carracedo, A., Arango, C., Costas, J., Jönsson, E.G., Terenius, L., Agartz, I., Petursson, H., Nothen, M.M., Rietschel, M., Matthews, P.M., Muglia, P., Peltonen, L., St Clair, D., Goldstein, D.B., Stefansson, K in Collier, D.A. (2009). Common variants conferring risk of schizophrenia. *Nature*, 460 (7256), 744–747.

Sullivan, P.F., Kendler, K.S. in Neale, M.C. (2003). Schizophrenia as a Complex Trait: Evidence From a Meta-analysis of Twin Studies. *Archives of General Psychiatry*, 60 (12), 1187-1192.

Suzuki, M.M. in Bird, A. (2008). DNA methylation landscape: Provocative insight from epigenomics. *Nature Reviews Genetics*, 9 (6), 465-476.

Swank, M.W. in Sweatt, J.D. (2001). Increased histone acetyltransferase and lysine acetyltransferase activity and biphasic activation of the ERK/RSK cascade in insular cortex during novel taste learning. *Journal of Neuroscience*, 21 (10), 3383-3391.

Španinger, K. in Fink, M. (2007). Cirkadiani ritem in kronomedicina. *Farmaceutski vestnik*, 58 (1), 3-7.

Španinger K., Košir R., Fink M., Debeljak N. in Rozman D. (2009). Cirkadiani ritem pri ljudeh. *Zdravstveni Vestnik*, 78, 651–657.

Takao, T., Tachikawa, H., Kawanishi, Y., Mizukami, K. in Asada, T. (2007). CLOCK gene T3111C polymorphism is associated with Japanese schizophrenics: a preliminary study. *European Neuropsychopharmacology*, 17 (4), 273–276.

Tomori, M. in Zihlerl, S. (1999). *Psihijatrija*. Ljubljana: Litterapicta.

Tsankova, N.M., Berton, O., Renthal, W., Kuman, A., Neve, R.L. in Nestler, E.J. (2006). Sustained hippocampal chromatin regulation in a mouse model of depression and antidepressant action. *Nature Neuroscience* 9 (4), 519-525.

Tsankova, N.M., Kumar, A. in Nestler, E.J. (2004). Histone modifications at gene promoter regions in rat hippocampus after acute chronic electroconvulsive seizures. *Journal of Neuroscience* 24 (24), 5603-5610.

Tsuang, M. (2000). Schizophrenia: genes and environment. *Biological Psychiatry*, 47 (3), 210–220.

Vacic, V., McCarthy, S., Malhotra, D., Murray, F., Chou, H.H., Peoples, A., Makarov, V., Yoon, S., Bhandar, A., Corominas, R., Iakoucheva, L.M., Krastoshevsky, O., Krause, V., Larach-Walters, V., Welsh, D.K., Craig, D., Kelsoe, J.R., Gershon, E.S., Leal, S.M., Dell Aquila, M., Morris, D.W., Gill, M., Corvin, A., Insel, P.A., McClellan, J., King, M.C., Karayiorgou, M., Levy, D.L., DeLisi, L.E. in Sebat, J. (2011). Duplications of the neuropeptide receptor gene VIPR2 confer significant risk for schizophrenia. *Nature*, 471 (7339), 499–503.

Walker, E.F. in Diforio, D. (1997). Schizophrenia: a neural diathesis-stress model. *Psychological Review*, 104 (4), 667-685.

Weaver, I.C., Cervoni, N., Champagne, F.A., D'Alessio, A.C., Sharma, S., Seckl, J.R., Dymov, S., Szyf, M. in Meaney, M.J. (2004). Epigenetic programming by maternal behaviour. *Nature Neuroscience*, 7 (8), 847-854.

Wender, P.H., Rosenthal, D., Ketty, S.S., Schulsinger, F. in Welner, J. (1974). Crossfostering. A research strategy for clarifying the role of genetic and experimental factors in the etiology of schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, 30 (1), 121-128.

Wulff, K., Dijk, D.J., Middleton, B., Foster, R.G. in Joyce, E.M. (2012). Sleep and circadian rhythm disruption in schizophrenia. *The British Journal of Psychiatry*, 200 (4), 308-316.

Wulff, K., Gatti, S., Wettstein, J.G. in Foster, R.G. (2010). Sleep and circadian rhythm disruption in psychiatric and neurodegenerative disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 11 (8), 589–599.

Yujnovsky, I., Hirayama, J., Doi, M., Borrelli, E. in Sassone-Corsi, P. (2006). Signaling mediated by the dopamine D2 receptor potentiates circadian regulation by CLOCK: BMALL. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103 (16), 6386–6391.

Zanini, M., Castro, J., Coelho, F.M., Bittencourt, L., Bressan, R.A., Tufik, S., Brietzke, E. (2013). Do sleep abnormalities and misaligned sleep/circadian rhythm patterns represent early clinical characteristics for developing psychosis in high risk populations?. *Neuroscience and Biobehavioral reviews*, 37, 2631-2637.

Zeitler, J.M., Dijk, D.J., Kronauer, R.E., Brown, E.N. in Czeisler, C.A. (2000). Sensitivity of the human circadian pacemaker to nocturnal light: melatonin phase resetting and suppression. *The Journal of Physiology*, 526, 695–702.

Zeitler, J.M., Khalsa, S.B., Boivin, D.B., Duffy, J.F., Shanahan, T.L., Kronauer, R.E. in Czeisler, C.A. (2005). Temporal dynamics of late-night photic stimulation of the human circadian timing system. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 289 (3), R839–44.