

Н.А. Соловьева, О.Н. Колосова

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РЕГУЛЯЦИИ ЦИРКАДНЫХ РИТМОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К СТРЕССУ

DOI 10.25789/YMJ.2020.72.27

УДК 612.017; 575.162

В статье представлены результаты анализа литературных данных, посвященных молекулярно-генетическим механизмам контроля и регуляции циркадных ритмов, определяющих хронотип человека.

Установлено, что нарушение циркадных ритмов может приводить к снижению устойчивости организма к воздействию стрессорных факторов с последующим развитием процессов дезадаптации, что в свою очередь может быть пусковым механизмом начала развития заболеваний.

Известно, что молекулярно-генетический контроль циркадных ритмов состоит из взаимодействующих положительных и отрицательных обратных связей регулирующих петель «часовых» генов, таких как *Bmal1*, *Clock*, *Per1*, *Per2*, *Per3*, *TIM*, *Npas2*, *Cry1* и *Cry2*, *Csnk1d*, *Csnk1e*, *Rev-erba*, *Rora*, *Bhlhe40*, *Bhlhe41*, а также генов *FBXL3*, *FTO*, *MADD*, *CYP2A6*, *ARNTL*, *Mel1a*, *Mel1b* и *GPR50* и др. Несмотря на то, что основные составляющие молекулярно-генетических механизмов циркадных ритмов уже установлены, вопрос регуляции их работы и взаимодействия между собой остается актуальным.

Таким образом, понимание молекулярных механизмов и определение генетических маркеров, вызывающих нарушение циркадных ритмов, является важным этапом для разработки методов, направленных на профилактику и коррекцию патологических состояний, обусловленных процессами дезадаптации.

Ключевые слова: адаптация, стрессорные факторы, циркадный ритм, «часовые» гены.

The article presents the results of the analysis of the literature data on the molecular genetic mechanisms of control and regulation of circadian rhythms that determine the chronotype of a person.

It has been established that disturbance of circadian rhythms arising as a result of psychoemotional and physical stress expressed in degree and / or duration, can lead to a decrease in the body's resistance to stress factors with the subsequent development of maladjustment processes, which in turn can be a trigger mechanism for the onset of the development of such pathological conditions as diseases of the cardiovascular system, gastrointestinal tract, autoimmune, mental, neurodegenerative, oncological and other diseases.

According to the results of numerous studies, the molecular genetic control of circadian rhythms consists of interacting positive and negative feedbacks of regulatory loops of clock genes, such as genes *Bmal1*, *Clock*, *Per1*, *Per2*, *Per3*, *TIM*, *Npas2*, *Cry1* and *Cry2*, *Csnk1d*, *Csnk1e*, *Rev-erba*, *Rora*, *Bhlhe40*, *Bhlhe41*, as well as genes *FBXL3*, *FTO*, *MADD*, *CYP2A6*, *ARNTL*, *Mel1a*, *Mel1b* and *GPR50*. The transcription factors encoded by these genes, enzymes, transporters, prohormones, signaling and other proteins are involved in regulation of daily frequency.

Despite the fact that the main components of the molecular genetic mechanisms of circadian rhythms are already known, the issue of regulating their work remains relevant today. The results of studies carried out on different populations with respect to individual polymorphic variants of genes are not always unambiguous and require a more detailed study, since it is the result of the interaction of genes that can determine their phenotypic effect.

Thus, understanding the molecular mechanisms and identifying genetic markers that cause disturbances in circadian rhythms is an important step in the development of methods aimed at preventing and correcting pathological conditions caused by maladjustment processes.

Keywords: adaptation, stress factors, circadian rhythm, clock genes.

Реформы социально-экономической системы, активно происходящие в мире в последние десятилетия, приводят к обновлению условий и принципов организации жизнедеятельности человека. Жизнь в условиях огромного потока информации и жесткой конкуренции стала нормой, современный человек живет и работает в режиме «круглосуточной готовности», что требует от внутренних систем организма напряженной и отлаженной работы, сбой которой способен вызвать нарушение процессов адаптации и как следствие развитие стресса. В связи с этим проблема устойчивости к стрессу считается в настоящее время одной из серьезных и приобретающих все боль-

шее значение для здравоохранения.

По определению Г. Селье, «стресс или общий адаптационный синдром - это совокупность неспецифических адаптационных нейрогуморальных реакций, возникающих в ответ на воздействие значительных по силе и продолжительности неблагоприятных факторов (стрессоров), а системы организма, противодействующие чрезвычайным раздражителям, вызывающим стресс, направлены на сохранение постоянства внутренней среды организма – гомеостаза» [16]. Сегодня уже известно, что биологический смысл этих процессов на ранних стадиях развития стрессовой реакции направлен на поддержание функций жизненно важных органов и систем путем повышения доступности энергоресурсов, регуляции регионального кровотока, активации ферментов клеточного метаболизма и других факторов биологической адаптации. Другими словами, возникающий в ответ на действие стрессоров

каскад нейрогуморальных и метаболических событий призван обеспечить срочную, а затем и долговременную адаптацию к новым требованиям среды. Вместе с тем те же самые приспособительные реакции, достигая определенной интенсивности, могут приобретать повреждающий характер и включаться практически в любой патологический процесс. Согласно результатам многочисленных исследований показано, что стресс, обусловленный чрезмерным воздействием раздражающих факторов, может являться пусковым механизмом в развитии таких патологических состояний, как заболевания сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта, аутоиммунные, психические, нейродегенеративные, онкологические и другие заболевания [9, 11, 18]. Именно поэтому современная медико-биологическая наука уделяет все большее внимание патогенетическим механизмам развития болезней, а именно изучению

возможностей адаптационного потенциала. Проводимые исследования показали, что решающее значение в проявлении реакции организма на тот или иной раздражитель имеют неспецифические характеристики воздействий: относительная сила или интенсивность воздействующего раздражителя; относительные амплитудно-временные динамические характеристики раздражителя (длительность воздействия, скорость нарастания, выход на «плато», скорость снижения, суммарная доза); преимущественная локализация приложения воздействия (центральная нервная система, дыхательные пути, желудочно-кишечный тракт, кожа и другие). В зависимости от данных характеристик воздействий формируется системный ответ организма, на который накладывают свой отпечаток его индивидуальные особенности, обусловленные генетическими факторами [3]. Согласно концепции системной (нейроэндокринной) регуляции генетических процессов и реализации генетической информации, именно нервная система запускает и сопрягает компоненты стресс-реакции на всех уровнях, вплоть до генома нервных клеток и клеток периферических органов и тканей «по принципу обратной связи в соответствии с требованиями среды, текущими потребностями организма и его индивидуальным опытом» [2]. Генетическая составляющая организменной стресс-реакции включает в себя как регуляторные изменения в пределах нормы реакции генотипа клеток-мишеней, так и структурные изменения за ее пределами. Изучение стресс-реакции у человека и животных показало, что кроме изменений, возникающих в организме при остром стрессорном воздействии, существуют отсроченные эффекты стресса, обусловленные длительными изменениями в работе нейро-эндокринно-иммунной системы, предполагающими долгосрочную модификацию активности генов. Непрерывающееся экстремальное действие стрессора способно приводить к истощению резервов отвечающих клеток и индуцировать перестройку генетического материала вплоть до его частичной или полной дезинтеграции в случае невозможности адаптации к внешним условиям, именно этот механизм лежит в основе формирования стресс-зависимой патологии [15]. Таким образом, принимая во внимание ритм работы современного человека в условиях высокого психоэмоционального и физического напряжения, обусловленного частой

сменой часовых поясов при перелетах на самолетах, нивелированием временных рамок, связанным с необходимостью и возможностью работы посредством интернета в любое время суток, проблема нарушения циркадных ритмов как фактор риска развития патологических состояний сегодня наиболее актуальна.

По определению британского нейробиолога, специалиста по циркадным ритмам Рассела Фостера, «циркадные ритмы» - это внутренние биологические ритмы организма с периодом около 24 ч. Они настраивают все физиологические процессы организма в соответствии с суточным вращением Земли и присутствуют практически у всех живых организмов на планете, включая бактерии. У человека главный циркадный ритм – это цикл сна и бодрствования, но вместе с тем влияние циркадных ритмов на организм не ограничивается только сном и пробуждением, они влияют на работу гормонов, сердца, пищеварения, иммунитета, даже на температуру тела, и многое другое. Регуляция циркадных ритмов осуществляется посредством «биологических часов», состоящих из большого числа (порядка 20 тыс.) нервных клеток, расположенных в гипоталамусной части головного мозга, называемой супрахиазматическим ядром. От клеток сетчатки глаза супрахиазматическое ядро получает информацию о свете, настраивает находящиеся в нём нейроны, которые посылают сигналы, согласовывающие работу всех остальных процессов в организме. Другими словами, работа циркадных ритмов должна совпадать с работой биологических часов, а они в свою очередь с сигналами окружающей среды. Однако не у всех людей эта система работает четко, многие сталкиваются с таким явлением, как «джетлаг», которое возникает в результате несовпадения ритма человека с дневным ритмом, обусловленного ночной работой или быстрой сменой часовых поясов. Во многом индивидуальная вариабельность адаптационных возможностей связана с генетическими особенностями, формирующими хронотип человека [5, 14, 19].

Первое предположение о существовании генов биологических часов озвучил английский биоритмолог Колин Питтендрай. Руководствуясь результатами исследований, проведенных в 1960-х гг., он сформулировал основные положения биоритмологии, согласно которым циркадные ритмы являются самостоятельными

колебаниями эндогенного происхождения и обладают автономностью [12]. Спустя несколько лет, в 1971 г., в экспериментах Рона Конопки и Сеймура Бензера с участием плодовой мушки *Drosophila melanogaster* были получены убедительные доказательства генетической природы циркадных ритмов. Исследователи обнаружили 3 разные мутации в участке X хромосомы, ассоциированные с отклонениями в периодичности циркадных ритмов, и обозначили ответственный за это ген как *Per* (от англ. period), кодирующий белок *Per* [8]. Позднее в 1990 г. был открыт ген суточного ритма *Clork* (*circadian locomotor output cycles kaput* – циркадный выключатель циклов двигательной активности), мутации которого нарушали устойчивость циркадного ритма у мышей. Чуть позже Джеффри Холл и Майкл Росбаш предположили, что кодируемый геном *PER* одноименный белок блокирует работу собственного гена, и такая петля обратной связи позволяет белку предотвращать собственный синтез и циклически непрерывно регулировать свой уровень в клетках, но для этого белку нужно попасть в ядро клетки, где хранится генетический материал (рис.1). В своих экспериментах они показали, что белок *PER* накапливается в ядре за ночь, но каким образом он туда попадает оставалось загадкой, пока в 1994 г. Майкл Янг не обнаружил еще один «часовой ген» циркадного ритма *Timeless*, кодирующий белок *TIM*, необходимый для нормального циркадного ритма. Майкл Янг показал, что когда белок *TIM* связан с белком *PER*, оба белка могут проникать в ядро клетки, где они блокируют активность гена *Per*, таким образом замыкая ингибирующую петлю обратной связи (рис.2). Спустя некоторое время он идентифицировал ещё один ген и назвал его *Doubletime*, его одноименный белок *DBT*, оказался, способен задерживать накопление белка *PER*.

Впоследствии эти результаты были подтверждены и другими учеными. Установлено, что молекулярный часовой механизм состоит не из одной, а как минимум из девяти взаимодействующих положительных и отрицательных обратных связей регулирующих петель циркадных «часовых» генов. К ним относятся гены *Bmal1* и *Clock*, образующие гетеродимеры и запускающие транскрипцию; гены транскрипционных факторов *period* (*Per1*, *Per2*, *Per3*); ген *Timeless* (*TIM*); ген *Npas2*; гены белков криптохромов 1 и 2 (*Cry1* и *Cry2*), участвующих в про-

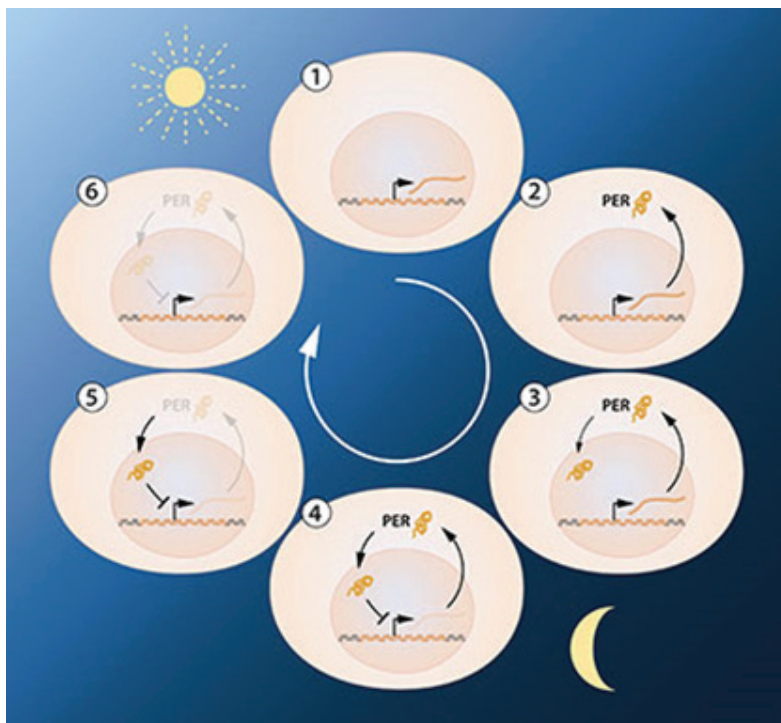


Рис. 1. Работа гена *PER* по принципу «обратной связи», демонстрирующая последовательность событий за 24 ч: 1- ген *PER* активен, производится его м-РНК; 2, 3 - м-РНК гена *PER* выходит из ядра клетки в цитоплазму, становясь матрицей для производства белка *PER*; 4 - белок *PER* накапливается в ядре клетки; 5 - активность гена *PER* снижается; 6 - работа гена *PER* блокируется, происходит замыкание петли обратной связи

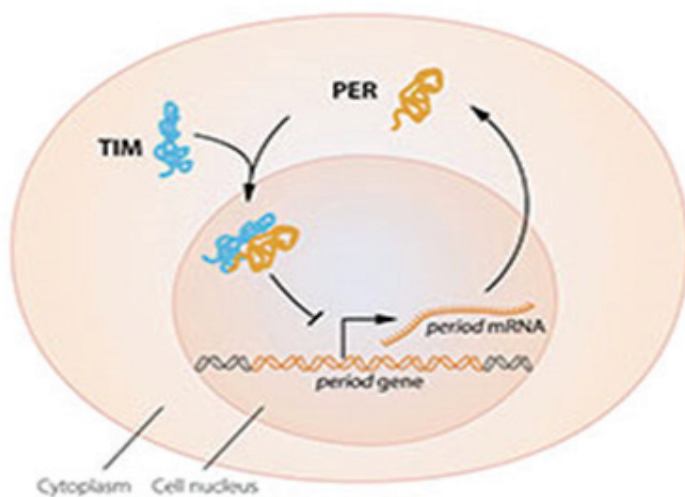


Рис.2. Молекулярный механизм работы циркадных ритмов посредством связи белков *PER* и *TIM*

цессе улавливания света; гены казеинкиназ (*Csnk1d*, *Csnk1e*), а также гены *Rev-erba*, *Rora*, *Bhlhe40* и *Bhlhe41*. Также с периодом суточной активности показана связь для генов *FBXL3*, *FTO*, *MADD*, *CYP2A6*, *ARNTL*. Кодированные этими генами факторы транскрипции, ферменты, транспортеры, прогормоны, сигнальные и другие белки вовлечены в регуляцию суточной периодичности [7, 10]. Ключевая же роль регу-

лятора циркадного механизма сегодня отводится генам, ассоциированным с обменом мелатонина. Два из них кодируют ферменты арилалкиламин-N-ацетилтрансферазу (AANAT) и гидроксиндол-о-метилтрансферазу (ASMT), ответственные за образование мелатонина из серотонина. Гены *Mel 1a*, *Mel 1b* и *GPR50* обеспечивают синтез белков-рецепторов мелатонина, расположенных на поверхности

клеточных мембран супрахиазматического ядра гипоталамуса, гиппокампе, коре больших полушарий и мозжечке. Взаимодействие мелатонина с этими рецепторами активирует сигнальные системы клетки и синтез вторичных посредников циклического аденозинмонофосфата (цАМФ), изменение концентрации ионов кальция [19]. Экспрессия генов *Mel 1* обнаруживается в коронарных артериях, *Mel 2* – в аорте, левом желудочке, коронарных артериях здоровых людей и больных ИБС [6]. Предполагают, что эти рецепторы обеспечивают вазодилатирующий эффект мелатонина и циркадный ритм гемодинамики, осуществляя связь мелатонинергической системы и супрахиазматического ядра гипоталамуса. Также мелатонин способен связываться с белками-рецепторами на поверхности ядра и действовать на уровне хроматина, непосредственно влияя на синтез белков. Гены *Ror α*, *Ror β*, *Ror γ*, обнаруженные в разных органах и тканях, включая супрахиазматическое ядро гипоталамуса, сетчатку глаза и эпифиз, кодируют белки ядерных рецепторов (так называемых орфанных ядерных ретиноидных рецепторов Ror/Rzr), по отношению к которым мелатонин выступает в роли лиганда [13]. Кроме того отмечено влияние мелатонина на экспрессию некоторых митохондриальных генов, а также генов, контролирующих клеточный цикл, адгезию и транспорт, клеточную пролиферацию и апоптоз, а также выявлена прямая связь мелатонина с генами, относящимися к онкогенезу [1].

Учитывая циклический характер экспрессии генов, обусловленный синхронизацией центрального регулятора циркадного ритма супрахиазматического ядра со световой информацией, нельзя недооценивать отрицательное влияние искусственного освещения, такого как лампы, экраны телевизоров, компьютерных мониторов и телефонов, которые по сути являются световыми «загрязнителями», существенно увеличивая долю людей, испытывающих хронический недостаток сна. В экспериментах на крысах было установлено, что постоянное освещение увеличивает порог чувствительности гипоталамуса к угнетающему действию эстрогенов, а это ключевой механизм в старении репродуктивной системы у самок крыс. Похожие результаты получены и для женщин, доказано, что влияние света ночью приводит к развитию состояния дисменореи [4, 17].

В связи с этим сегодня уже ни у кого не вызывает сомнения, что регуляция

циркадных ритмов осуществляется на хорошо систематизированном и упорядоченном молекулярно-генетическом уровне, а ее нарушение влечет за собой негативные последствия. Недостаточный уровень бодрствования, сонливость и сопровождающие их дефицит внимания, быстрая утомляемость и хроническая усталость являются важными факторами риска развития нарушений адаптации организма, что в свою очередь может стать пусковым механизмом заболевания.

Таким образом, понимание молекулярных механизмов и определение генетических маркеров, ассоциированных с хронотипом индивидов, является важным этапом для разработки методов, направленных на профилактику и коррекцию патологических состояний, обусловленных процессами дезадаптации.

Анализ литературных данных проведен в рамках проекта VI.62.1.8. «Разработка биопрепаратов из тканей растений и животных Якутии на основе изучения особенностей их биохимического состава и механизмов адаптации к условиям Севера» (№ 0376-2019-0005 регистрационный номер АААА-А17-117020110055-3) Института биологических проблем криолитозоны ФИЦ ЯНЦ СО РАН.

Литература

1. Анисимов В.Н. Эпифиз, биоритмы и старение организма / В.Н.Анисимов // Успехи физиол. наук. - 2010. - Т. 39 (4). - С. 40–65.
2. Anisimov V.N. Epiphysis, biorhythms and aging of the body / V.N. Anisimov // *Advances in physiology sciences*. - 2010. - Т. 39 (4). - С. 40–65.
3. Лопатина Н.Г. Гипотеза нервной регуляции процесса реализации наследственной информации / Н.Г. Лопатина, Г.П. Смирнова, В.В. Пономаренко // Проблемы высшей нервной деятельности и нейрофизиологии. Под ред. Н.Ф. Суворова. - Л., 1975. - С. 107–121.
4. Lopatina N.G. Hypothesis of nervous regulation of the process of realization of hereditary information / N.G. Lopatina, G.P. Smirnova, V.V. Ponomarenko // *Problems of higher nervous activity and neurophysiology*. Ed. N.F. Suvorov. - L., 1975. - P. 107-121.
5. Ушаков И. Б. Адаптационный потенциал человека. / И. Б. Ушаков // Вестник РАМН. - 2004. - № 3. - С. 8-13.
6. Ushakov I.B. Human adaptive potential / I.B. Ushakov // *Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*. - 2004. - No. 3. - S. 8-13.
7. Bedrosian T. Endocrine effects of circadian disruption / T. Bedrosian, L. Fonken, R. Annu Nelson // *Rev. Physiol.* - 2017. - Vol. 78. - P.109-131. DOI: 10.1146/annurev-physiol-021115-105102
8. Breakpoints of time in bed, midpoint of sleep, and social jetlag from infancy to early adulthood / C. Randler, C. Vollmer, N. Kalb et al. // *Sleep Med.* - 2019. - Vol. 57(80). - P. 86. DOI:10.1016/j.sleep.2019.01.023
9. Ekmekcioglu C. The melatonin receptor subtype MT2 is present in the human cardiovascular system / C. Ekmekcioglu, T. Thalhammer, S. Humpeler // *J. Pineal. Res.* - 2003. - Vol. 35 (1):40-4.
10. Genome-wide association analyses of chronotype in 697,828 individuals provides insights into circadian rhythms / E. Samuel, M. Jacqueline, Andrew R Wood et al. // *Nature Communications*. - 2019. - Vol. 10. - P. 343. DOI: 10.1038/s41467-018-08259-7.
11. Konopka R. Clock mutants in *Drosophila melanogaster* // R.Konopka, S. Benzer // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* - 1971. - Vol. 68. - P.2112-2116.
12. Longitude position in a time zone and cancer risk in the United States / F.Gu, S. Xu, S. Devesa et al. // *Cancer Epidemiol Prev Biomark.* - 2017. - Vol. 26. - P.1306–1311. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-16-1029.
13. Martha H. Genetics of Circadian Rhythms / H. Martha, S. Kazuhiro, J.Peng // *Neurol Clin.* - 2019. - Vol. 37(3). - P.487-504. DOI: 10.1016/j.ncl.2019.05.002.
14. Musiek E. Circadian clock disruption in neurodegenerative diseases: cause and effect? / E. Musiek // *Front. Pharmacol.* - 2015. - Vol. 6 (29). - P. 40–44.
15. Pittendrigh C. Temporal organization: reflections of a Darwinian clock-watcher / C. Pittendrigh // *Ann. Rev. Physiol.* - 1993. - Vol. 55(1). - P.17-54.
16. Rijo-Ferreira F. Genomics of circadian rhythms in health and disease / F. Rijo-Ferreira, J. Takahashi // *Genome Med.* - 2019. - №11(1). - Vol.82. DOI: 10.1186/s13073-019-0704-0.
17. Rönnlund M. Time perspective biases are associated with poor sleep quality, daytime sleepiness, and lower levels of subjective well-being among older adults / M. Rönnlund, M. Carelli // *Front Psychol.* - 2018. - Vol. 9. DOI:10.3389/fpsyg.2018.01356.
18. Savvateeva-Popova E. Stress and genome lability: *Drosophila* and Rat genetic models. In: *Proceedings of the International Norway-Russian Startup PHAsE* / E. Savvateeva-Popova, N. Dyuzhikova // Seminar "Physiological mechanisms of humans and animals in the processes of adaptation to environmental changes". Saint Petersburg. - 2017. - P. 18-19.
19. Selye H. Conditioning by corticoids for the production of cardiac lesions with noradrenaline / H. Selye, E. Bajusz // *Acta Endocrinol.* - 1959. - Vol. 30. - P. 183–194.
20. Social jetlag and menstrual symptoms among female university students / Y. Komada, M. Ikeda Sato et al. // *Chronobiol Int.* - 2019. - Vol.36(2). - P.258–264. DOI:10.1080/07420528.2018.1533561.
21. The association between social jetlag, the metabolic syndrome, and type 2 diabetes mellitus in the general population: the new hoorn study / A. Koopman, S. Rauh, E. Van't Riet et al. // *J. Biol. Rhythms.* - 2017. - Vol. 32(4). - P.359–368. DOI: 10.1177/0748730417713572.
22. The genetics of circadian rhythms, sleep and health / A. Jagannath, L. Taylor, Z. Wakaf et al. // *Human Molecular Genetics*. - 2017. - Vol. 26. - P.128 –138. DOI: 10.1093/hmg/ddx240