

Влияние полиморфизма циркадианного гена *CLOCK* на параметры жесткости артериальной стенки и уровни артериального давления у лиц без артериальной гипертонии

DOI: <http://dx.doi.org/10.18565/cardio.2016.8.19-27>

¹В.А. КОРНЕВА, ²И.В. КУРБАТОВА, ²Л.В. ТОПЧИЕВА, ²С.Н. КОЛОМЕЙЧУК, ¹Т.Ю. КУЗНЕЦОВА, ²Н.Н. НЕМОВА

¹Медицинский институт ФГБОУ ВПО Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск; ²ФГБУН Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

Контактная информация: Корнева В.А. E-mail: vikkorneva@mail.ru

Проведена оценка влияния полиморфных вариантов гена *CLOCK* на показатели жесткости артериальной стенки (ЖАС) и колебания артериального давления (АД) у пациентов с нормальным АД. Обследованы 115 пациентов без АГ и других сердечно-сосудистых заболеваний русской национальности (62 мужчины, 53 женщины, средний возраст $36,4 \pm 1,01$ года). Оценены параметры жесткости сосудов. Проведено генотипирование по трем полиморфным маркерам гена *CLOCK*: 3111Т>С (3'-нетранслируемая область), 862Т>С (9 экзон) и 257Т>G (промоторная область) с помощью полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов. Показано, что скорость распространения пульсовой волны достоверно не различалась у носителей разных генотипов по 257Т>G, 862Т>С, 3111Т>С маркерам гена *CLOCK*. Показатели индекса аугментации (Aix ночной, Aix максимальный) были ниже у лиц с генотипами, ассоциированными с развитием артериальной гипертонии и ишемической болезни сердца (257GG, 862CC, 3111CC). Индекс ригидности артерий (ASI) был достоверно выше у мужчин с генотипом CC по 862Т>С полиморфному маркеру. Обнаружено влияние полиморфных вариантов 257Т>G и 862Т>С гена *CLOCK* на параметры, отражающие варибельность АД (утренний подъем диастолического АД и скорость нарастания АД). Высказано предположение, что полиморфизм гена *CLOCK* является одним из факторов, определяющих эластические свойства сосудистой стенки. Обсуждены возможные молекулярные механизмы влияния циркадианных генов на эластичность и жесткость сосудов.

Ключевые слова: жесткость артериальной стенки, циркадианные гены, полиморфизм, скорость распространения пульсовой волны.

Circadian *CLOCK* Gene Variants, Parameters of Arterial Stiffness and Blood Pressure Levels in Subjects Without Arterial Hypertension

DOI: <http://dx.doi.org/10.18565/cardio.2016.8.19-27>

¹V.A. KORNEVA, ²I.V. KURBATOVA, ²L.V. TOPCHIEVA, ²S.N. KOLOMEICHUK, ¹T.Yu. KUZNETSOVA, ²N.N. NEMOVA

¹Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russia; ²Institute of Biology of Karelian Research Centre, Petrozavodsk, Russia

Contact information: Korneva V.A. E-mail: vikkorneva@mail.ru

CLOCK gene polymorphic variants, parameters of arterial stiffness and blood pressure (BP) variability were studied in 115 normotensive Russian patients without cardiovascular diseases (62 men, 53 women; mean age 36.4 ± 1.01 years). Examination included ECG, 24h BP monitoring, duplex scan of carotid arteries, registration of vascular stiffness parameters, and genotyping of the following polymorphic markers of *CLOCK*: 3111T>C (3'-untranslated region), 862T>C (exon 9) and 257T>G (promoter region) by PCR-RFLP method. Pulse wave velocity was not significantly different among carriers of various 257T>G, 862T>C, 3111T>C genotypes. Augmentation index (Aix night, Aix max) values were lower in individuals with genotypes allegedly associated with essential hypertension and ischemic heart disease (257GG, 862CC, 3111CC). Arterial stiffness index (ASI) was significantly higher in men having CC genotype of 862T>C. Polymorphic variants 257T>G and 862T>C SNPs of *CLOCK* gene were found to be associated with parameters reflecting BP variability (morning rise of diastolic BP and rate of BP rise). These results provide a basis for suggestion that the *CLOCK* gene polymorphism is one of factors determining elastic properties of vascular wall. The suggestion is supported by discussion of possible molecular mechanisms of circadian genes impact on elasticity and rigidity of vessel.

Key words: arterial stiffness; circadian genes; polymorphism; pulse wave velocity.

Известно, что практически все физиологические и биохимические процессы в организме, в том числе функционирование сердечно-сосудистой системы, подвержены суточным, или циркадианным, колебаниям [1]. Так, изменения функциональных свойств в течение суток характерны для эндотелия, гладких мышечных клеток, фибробластов сосудистой стенки [2]. С циркадианными ритмами связано также артериальное давление (АД). Известно, что самое высокое АД у человека

регистрируется примерно в 6 ч вечера, а наименьшее ночью в период с 1 до 4 ч.

Циркадианные ритмы организма запрограммированы системой циркадианных генов, среди которых особое место занимают гены, кодирующие транскрипционные факторы, например *CLOCK* и *BMAL1* [3]. Нарушения молекулярных механизмов регуляции работы циркадианных генов могут приводить к дисрегуляции метаболических процессов [4] и развитию ряда патологий, в том числе сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [5, 6]. Например, у мышей, мутантных по *BMAL1* и *CLOCK*, наблюдаются дисфункция эндотелия и утрата способности адаптироваться к тромбозу [6].

© Коллектив авторов, 2016

© Кардиология, 2016

Kardiologia 2016; 8: 19—27

Ранее в наших исследованиях была установлена ассоциация полиморфных маркеров 311Т>С, 862Т>С и 257Т>G гена *CLOCK* с риском развития эссенциальной артериальной гипертензии (АГ) (I—II стадии, 1—2-я степень) и ишемической болезни сердца — ИБС (острым инфарктом миокарда — ИМ). На основании собственных данных [7, 8] и данных литературы было выдвинуто предположение о том, что мутации в циркадианных генах могут вносить вклад в развитие ССЗ посредством влияния на биохимические показатели, такие как уровень гормонов (мелатонин, адренкортикотропный гормон, тестостерон), уровень регулятора фибринолитического каскада PAI-1 и липидный состав плазмы крови. Не исключено, что изменения в составе липидов и гормональном балансе у носителей определенных генотипов по изучаемым маркерам гена *CLOCK* могут обуславливать нарушения некоторых физиологических свойств и показателей сердечно-сосудистой системы, например, снижение эластичности артерий.

Снижение эластичности и соответственно повышение жесткости артериальной стенки (ЖАС), как правило, ведут к росту центрального АД и повышению нагрузки на жизненно важные органы, что сопровождается гипертрофией миокарда, ухудшением коронарной перфузии, диастолической дисфункцией левого желудочка [9]. Согласно многочисленным клиническим и экспериментальным работам, ЖАС является независимым предиктором ССЗ и смертности среди населения многих стран [10, 11]. Однако пока не выявлены ранние предикторы повышения жесткости сосудов; кроме того, большинство исследований по ЖАС проводилось у лиц с АГ или другими ССЗ, в то время как изучению жесткости сосудистой стенки у лиц с нормальным АД посвящены немногочисленные работы. Оказалось, что циркадианная дисфункция может приводить к повышению ЖАС. Например, у мышей, нокаутных по циркадианным генам *Bmal1* и по генам *Per1*, *Per2* и *Per3*, наблюдали повышение жесткости сосудов артерий и артериол [12]. Этот факт позволяет предположить участие циркадианных генов в ремоделировании артериальной стенки. В настоящее время большинство экспериментальных исследований сосредоточено на изучении влияния генов ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) и NO-синтазы на показатели жесткости сосудов [9]. Однако исследования, посвященные роли циркадианных генов в изменении показателей эластичности сосудов в норме и патологии, малочисленны.

В настоящей работе для оценки влияния полиморфных вариантов гена *CLOCK* на эластичность сосудов и параметры АД мы выбрали несколько показателей, широко применяемых в современных клинических исследованиях (скорость распространения пульсовой волны — СРПВ, аугментационный индекс — Aix, индекс ЖАС и др.).

Цель исследования: оценить влияние полиморфных вариантов гена *CLOCK* на параметры жесткости сосудов и АД.

Материал и методы

Обследованы 115 пациентов без АГ и других ССЗ русской национальности (62 мужчины и 53 женщины в возрасте от 28 до 49 лет). Выявлена сопутствующая АГ по результатам суточного мониторинга АД (СМАД) в отсутствие гипотензивной терапии.

Из исследования были исключены пациенты с ССЗ, сахарным диабетом, почечной недостаточностью, наличием атеро-

склеротических бляшек в сонных артериях и/или принимающие гипотензивные или гиполипидемические препараты. Все обследованные подписывали информированное согласие на участие. В работе использованы специально разработанные анкеты.

Лабораторные методы включали оценку липидного состава крови и уровня в крови глюкозы, мочевой кислоты, креатинина с расчетом скорости клубочковой фильтрации (формула СКД-ЕРІ). Клинико-биохимическая характеристика пациентов представлена в табл. 1.

Таблица 1. Клиническая характеристика группы обследованных лиц

Показатель	Значение
Число больных	115
Возраст, годы	36,42±1,01
Пол, мужчины/женщины	62/53
ИМТ, кг/м ²	25,28±0,53
Глюкоза крови натощак, ммоль/л	4,58±0,14
Общий холестерин, ммоль/л	5,54±0,16
ХС ЛВП, ммоль/л	1,45±0,04
ХС ЛНП, ммоль/л	3,60±0,14
Триглицериды, ммоль/л	1,33±0,07

Примечание. ИМТ — индекс массы тела; ХС ЛВП — холестерин липопротеинов высокой плотности; ХС ЛНП — холестерин липопротеинов низкой плотности.

Физические нагрузки, употребление кофеинсодержащих напитков, курение были исключены за 9 ч до исследования. Оценивали массу тела и рост пациентов, индекс массы тела (ИМТ). Пациентов с ИМТ более 30 кг/м² исключали из исследования (ИМТ составил в среднем 25,28±0,53 кг/м²). Употребление алкоголя исключалось за 24 ч до проведения исследования. Образцы венозной крови для генетического анализа брали в 8 ч утра. Геномную ДНК выделяли из 200 мкл венозной крови с помощью набора AxyPrep Blood Genomic DNA Miniprep Kit согласно инструкции производителя. Генотипирование проведено по 3 полиморфным маркерам гена *CLOCK*: 311Т>С (3'-нетранслируемая область), 862Т>С (9 экзон) и 257Т>G (промоторная область) с помощью метода полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма длин рестриционных фрагментов. Ранее описаны праймеры для проведения полимеразной цепной реакции и условия рестрикции для генотипирования по изучаемым полиморфным маркерам гена *CLOCK*: 311Т>С [13], 862Т>С [14], 257Т>G [15]. Оценку показателей липидного состава крови осуществляли энзиматическим колориметрическим (на биохимическом анализаторе «COBAS INTEGRA 400 PLUS») и расчетными методами, концентрацию глюкозы измеряли в плазме крови.

Инструментальное обследование включало электрокардиографию, эхокардиографию, дуплексное сканирование сонных артерий (аппарат Vivid-7), бифункциональное СМАД с оценкой ригидности артерий. Класс точности прибора А/А, валиден для измерения дополнительных «сосудистых» индексов [16, 17]. Анализ ригидности артерий выполняли с использованием технологии Vasotens [18]. Метод представляет собой оценку пульсовой волны в плечевой артерии. АД измеряли с помощью осциллометрического метода. Были оценены следующие параметры жесткости сосудов: СРПВ (PWV), ее максимальная суточная величина, среднесуточная СРПВ, приведенная к систолическому АД (САД) = 100 мм рт.ст. и частоте сердечных сокращений (ЧСС) =

60 уд/мин, а также СРПВ в ночные и дневные часы, вариабельность СРПВ в течение 24 ч (вСРПВ), индекс ЖАС (ASI), индекс аугментации (Aix) — оценивали его вариабельность, а также показатели в ночные и дневные часы. Все измерения проводили на левой руке. Кроме того оценивали максимальную скорость подъема АД (dp/dtmax), параметры вариабельности АД, величину утреннего подъема САД (ВУП САД) и диастолического АД (ВУП ДАД), пульсовое давление (ПД).

Статистический анализ осуществлен с помощью программы Statgraphics 2.1. Достоверность различий изучаемых показателей между группами оценивали с помощью критерия χ^2 , непараметрических критериев Манна—Уитни и Вилкоксона. Данные представлены в виде среднего арифметического значения (M) \pm стандартная ошибка среднего (m). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Средний возраст обследованных составил $36,42 \pm 1,01$ года. Клиническая характеристика группы представлена в табл. 1. Уровень общего холестерина (ХС) составил $5,54 \pm 0,16$ ммоль/л, отмечалась незначительная дислипидемия: повышение уровня ХС липопротеинов низкой плотности (ЛНП) до $3,60 \pm 0,14$ ммоль/л. Уровень триглицеридов и ХС липопротеинов высокой плотности (ЛВП) был в норме.

Следует отметить, что все зарегистрированные параметры у обследованных пациентов имели оптимальное значение. Так, средний уровень САД составил $113,63 \pm 1,79$ мм рт.ст., ДАД $71,4 \pm 0,65$ мм рт.ст. Показатели ПД, среднего АД и ВУП АД также соответствовали норме. Гемодинамические параметры, характеризующие обследованную группу, представлены в табл. 2.

Таблица 2. Гемодинамические параметры в обследованной группе

Показатель	Значение
САД, мм рт. ст.	$113,63 \pm 1,79$
ДАД, мм рт.ст.	$71,4 \pm 0,65$
Максимальная скорость подъема АД (dp/dt max), мм рт.ст./с	$567,74 \pm 11,47$
ПД, мм рт.ст.	$46,64 \pm 1,5$
Среднее АД, мм рт.ст.	$85,31 \pm 0,69$
ВУП САД, мм рт.ст.	$32,06 \pm 1,24$
ВУП ДАД, мм рт.ст.	$27,4 \pm 1,11$

Примечание. АД — артериальное давление; САД — систолическое артериальное давление; ДАД — диастолическое артериальное давление; ПД — пульсовое давление; ВУП — величина утреннего подъема АД.

Нами также оценены показатели ЖАС (табл. 3). Среднесуточная СРПВ составила $6,92 \pm 0,07$ м/с. Обнаружены различия по СРПВ в дневное ($6,42 \pm 0,09$ м/с) и ночное ($3,41 \pm 1,78$ м/с; $p < 0,05$) время суток, что отражает значительную вариабельность этого показателя у пациентов с нормальным АД и необходимость разработки нормативных значений показателей с учетом времени суток.

Нами также оценивался Aix, индекс прироста пульсовой волны, который характеризует соотношение амплитуд прямой и отраженной от бифуркации аорты составляющих пульсовой волны. Средний Aix в обследованной группе был в норме ($-42,94 \pm 2,48\%$). Основные факторы, определяющие данный показатель, — ригидность аорты и периферическое сопротивление

Таблица 3. Показатели ЖАС у обследованных пациентов

Показатель	Значение
СРПВ, м/с	
вариабельность	$0,84 \pm 0,04$
максимальная	$9,41 \pm 0,2$
приведенная*	$6,25 \pm 0,08$
средняя	$6,92 \pm 0,07$
в дневное время	$6,42 \pm 0,09$
в ночное время	$3,41 \pm 1,78$
Aix, %	
средний	$-42,94 \pm 2,48$
максимальный	$8,91 \pm 2,52$
дневной	$-44,85 \pm 2,07$
ночной	$-46,1 \pm 3,42$
вариабельность	$17,17 \pm 0,55$
Амбулаторный индекс ригидности, ед.	$0,32 \pm 0,02$
Время распространения отраженной волны, мс	$147,59 \pm 1,07$
Индекс ЖАС, мм рт.ст.	$128,58 \pm 1,71$

Примечание. СРПВ — скорость распространения пульсовой волны; *СРПВ приведенная — СРПВ, приведенная к САД = 100 мм рт.ст. и частоте сердечных сокращений (ЧСС) = 60 уд/мин; Aix — индекс аугментации; здесь и в табл. 5: ЖАС — жесткость артериальной стенки.

ление. Роль данного показателя в характеристике жесткости сосудов, в отличие от СРПВ, не является однозначной.

Амбулаторный индекс ригидности (AASI) составил у обследованных лиц $0,32 \pm 0,02$. Известно, что данный показатель коррелирует с аортальной СРПВ, ПД. Нормальные значения AASI зависят от возраста и до 20 лет должны быть ориентировочно менее 0,5, а для старшей возрастной группы менее 0,7; у наших пациентов этот показатель соответствует возрастной норме ($0,32 \pm 0,02$).

Показана корреляция высоких значений индекса ASI с традиционными факторами риска (ФР) развития атеросклероза, повышенным ПД и признаками нарушения вазомоторной функции эндотелия [1]. В обследованной группе данный показатель соответствует умеренному риску развития коронарного атеросклероза, составив $128,58 \pm 1,71$ мм рт.ст.

Проведен сравнительный анализ распределений частот аллелей и генотипов по полиморфным маркерам 3111T>C, 862T>C и 257T>G гена *CLOCK* в группах мужчин и женщин без АГ (табл. 4). Достоверных различий по распределению частот аллелей и генотипов по изучаемым маркерам в зависимости от половой принадлежности не обнаружено.

В настоящем исследовании проведен сравнительный анализ показателей ЖАС и параметров АД у носителей разных генотипов по полиморфным маркерам 3111T>C, 862T>C и 257T>G гена *CLOCK* (табл. 5).

Оказалось, что значения СРПВ_{макс.} и вСРПВ, зарегистрированные у мужчин ($10,10 \pm 0,27$ и $0,96 \pm 0,06$ м/с соответственно), достоверно выше ($p = 0,0003$; $p = 0,0009$), чем у женщин ($8,62 \pm 0,26$ и $0,71 \pm 0,03$ м/с соответственно). Однако значения этих и других показателей СРПВ у носителей различных генотипов по изучаемым маркерам достоверно не различались как у мужчин, так и у женщин.

У пациентов, имеющих генотип CC по полиморфному маркеру 862T>C (для которого показана ассоциация с повышением риска развития АГ и ИБС), значения ВУП ДАД достоверно выше, чем у носителей генотипов TC ($p = 0,0317$) и TT ($p = 0,0343$)

(см. табл. 5). Кроме того, обнаружены достоверные различия по максимальной скорости подъема АД (dp/dt) и максимальных A_{ix} у носителей разных генотипов по полиморфному маркеру 257T>G (см. табл. 5). У лиц с генотипом ТТ по данному маркеру dp/dt ниже, чем у пациентов с аллелем G в генотипе (генотипы TG ($p=0,0398$) и GG ($p=0,0080$)), для которого показана ассоциация с повышением риска развития АГ и ИБС. Значения A_{ix} макс. у носителей генотипа GG, для которого показана ассоциация с повышением риска развития АГ и ИБС, достоверно ниже, чем у носителей TG ($p=0,0205$) и ТТ генотипов ($p=0,0138$). Различия значений ночного A_{ix} у носителей разных генотипов по полиморфному маркеру 311T>C оказались недостоверными (см. табл. 5). Однако наблюдалась некоторая тенденция к снижению этого показателя от генотипа ТТ к генотипу ТС и от генотипа ТС к генотипу СС, для которого показана ассоциация с повышением риска развития АГ и ИБС.

Можно также проследить некоторую тенденцию в отношении ночного A_{ix} у доноров с разными генотипами по полиморфному маркеру 862T>C (см. табл. 5). Наблюдается тенден-

ция к снижению этого показателя у гетерозигот по сравнению с носителями генотипа ТТ и у носителей генотипа СС, для которого показана ассоциация с повышением риска развития АГ и ИБС, по сравнению с гетерозиготами. Показано, что у носителей генотипа СС по маркеру 862T>C ВУП ДАД достоверно выше, чем у носителей альтернативных генотипов (см. табл. 5). Различия по максимальной скорости подъема АД и A_{ix} макс. (рис. 1) у носителей разных генотипов по полиморфному маркеру 257T>G выявлены и у мужчин и у женщин.

При анализе изучаемых показателей ЖАС у мужчин и женщин с разными генотипами по полиморфным маркерам гена *CLOCK* в группе мужчин выявлены некоторые различия, которые в группе женщин оказались недостоверными. Так, у мужчин, имеющих генотип СС по полиморфному маркеру 862T>C, для которого показана ассоциация с повышением риска развития АГ и ИБС, ночной A_{ix} достоверно ниже, чем у носителей генотипа ТТ ($p=0,0161$) (рис. 2), а ASI достоверно выше, чем у гетерозигот ($p=0,0285$) (рис. 3). Показано также, что у мужчин с генотипом СС по полиморфному маркеру 311T>C ночной

Таблица 4. Распределение частот аллелей и генотипов по изученным полиморфным маркерам гена *CLOCK* у лиц без АГ

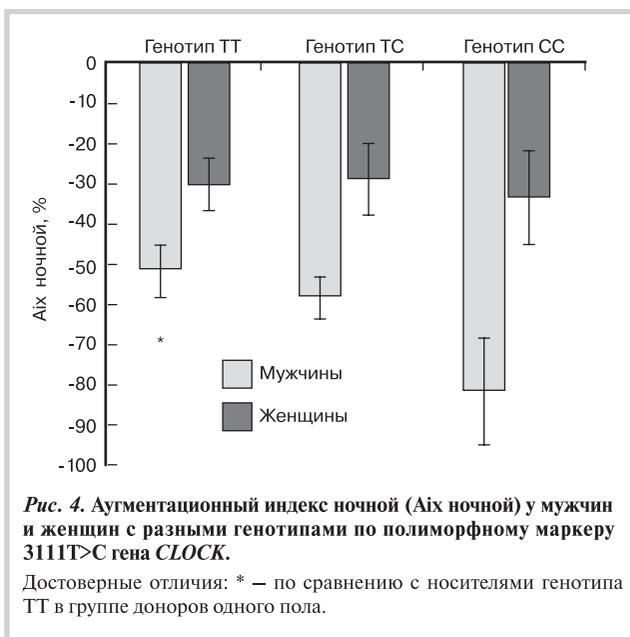
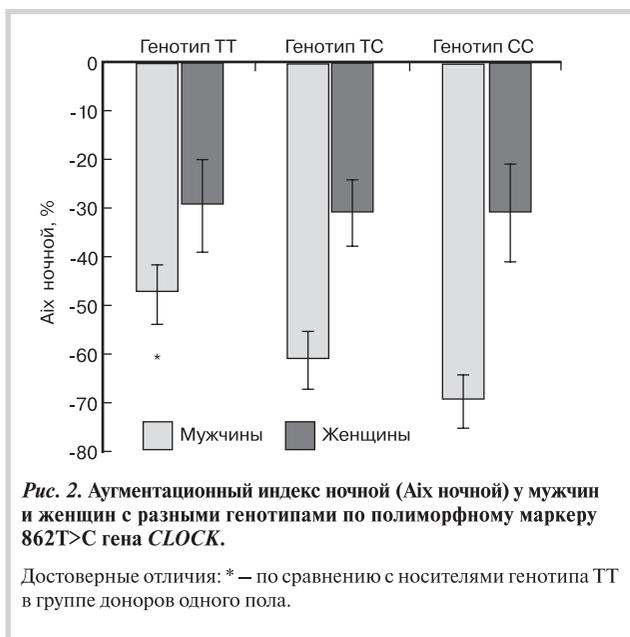
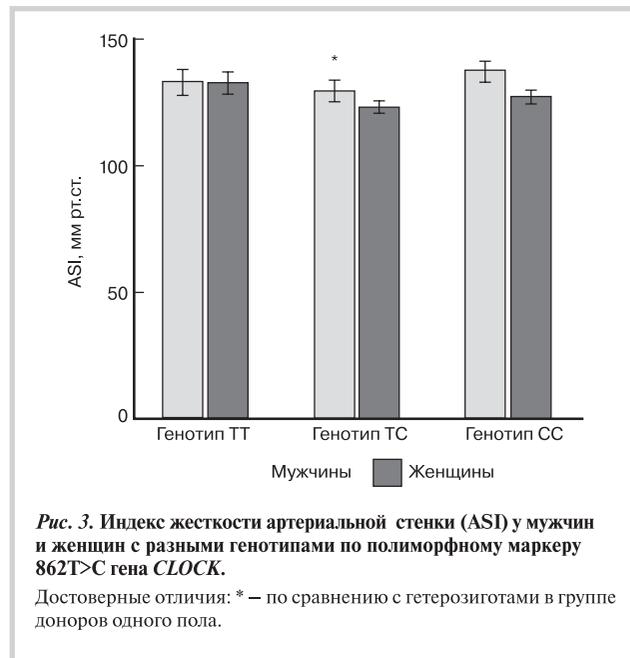
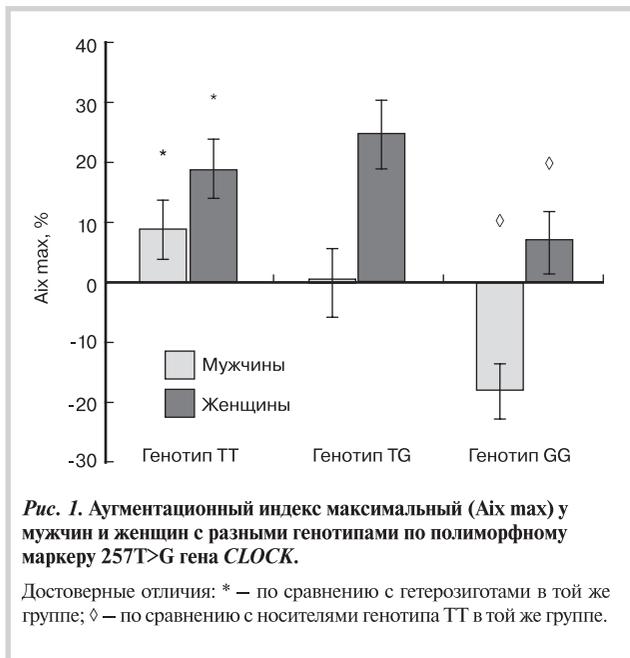
Полиморфный маркер гена <i>CLOCK</i>		Общая группа лиц (n=115)		Мужчины (n=62)		Женщины (n=53)		
311T>C	аллели	T	0,69	0,70			0,69	
		C	0,31	0,30			0,31	
	критерий χ^2				0,01 (df=1; $p>0,05$)			
	Генотип	ТТ	0,48	0,48			0,48	
		ТС	0,43	0,44			0,43	
		СС	0,09	0,08			0,09	
Критерий χ^2				0,04 (df=2; $p>0,05$)				
862T>C	Аллель	T	0,53	0,52			0,54	
		C	0,47	0,48			0,46	
	Критерий χ^2				0,05 (df=1; $p>0,05$)			
	Генотип	ТТ	0,25	0,23			0,27	
		ТС	0,56	0,58			0,54	
		СС	0,19	0,19			0,19	
Критерий χ^2				0,27 (df=2; $p>0,05$)				
257T>G	Аллель	T	0,63	0,61			0,64	
		G	0,37	0,39			0,36	
	Критерий χ^2				0,11 (df=1; $p>0,05$)			
	Генотип	ТТ	0,43	0,40			0,45	
		TG	0,39	0,41			0,38	
		GG	0,18	0,19			0,17	
Критерий χ^2				0,30 (df=2; $p>0,05$)				

Примечание. Критерий χ^2 отражает достоверность различий распределений аллелей и генотипов у мужчин и женщин; АГ — артериальная гипертензия.

Таблица 5. Некоторые показатели ЖАС и АД у носителей разных генотипов по полиморфным маркерам гена *CLOCK*

Полиморфный маркер	Генотип	Показатель			
		ВУП ДАД, мм рт.ст.	dp/dt, мм рт.ст./с	A _{ix} ночной, %	A _{ix} макс., %
311T>C	ТТ	29,28±1,60	544,10±15,84	-39,86±4,92	9,70±3,71
	ТС	27,59±1,87	586,56±21,05	-49,79±4,99	9,00±4,34
	СС	25,23±2,13	589,94±19,71	-53,64±10,60	6,47±5,66
862T>C	ТТ	25,58±2,02	571,00±24,06	-39,57±5,65	8,00±5,61
	ТС	26,76±1,35	559,62±14,71	-47,35±4,89	8,58±3,25
	СС	34,27±3,72Δ,*	592,41±28,85	-53,25±7,66	11,63±5,16
257T>G	ТТ	27,69±1,38	533,70±15,74	-43,35±5,98	11,82±3,50
	TG	27,03±2,09	584,70±18,95Δ	-43,50±5,08	11,66±4,53
	GG	27,43±3,00	628,94±26,76Δ	-58,20±5,26	-4,76±4,61Δ,*

Примечание. * — достоверные отличия по сравнению с гетерозиготами в той же группе, Δ — по сравнению с носителями генотипа ТТ в той же группе; ЖАС — жесткость артериальной стенки; АД — артериальное давление; ВУП — величина утреннего подъема АД; ДАД — диастолическое АД.



Aix достоверно ниже, чем у носителей генотипа TT ($p=0,0489$), в то время как у женщин достоверных различий не обнаружено (рис. 4). Изучаемые показатели ЖАС также сравнивались у мужчин и женщин. Выявлено, что Aix макс., зарегистрированный у мужчин ($1,23 \pm 3,1$), достоверно ниже ($p=0,0020$), чем у женщин ($17,40 \pm 3,23$). Однако, как уже упоминалось, различия по этому показателю у носителей разных генотипов по полиморфному маркеру 257T>G оказались достоверными как в группе мужчин, так и в группе женщин (см. рис. 1). При сравнении изучаемых показателей у мужчин и женщин было показано, что значения некоторых других показателей ЖАС также различаются в зависимости от пола. Так, Aix сред., зарегистрированные у мужчин ($-53,28 \pm 3,46\%$), достоверно ниже ($p<0,0001$), чем у женщин ($-31,04 \pm 2,77\%$); Aix днем у мужчин ($-56,35 \pm 1,91\%$) достоверно ниже ($p<0,0001$), чем у женщин ($-31,74 \pm 2,73\%$); ночной Aix

у мужчин ($-58,40 \pm 4,06\%$) достоверно ниже ($p<0,0001$), чем у женщин ($-30,38 \pm 4,73\%$). ПД, зарегистрированное у мужчин ($48,10 \pm 2,20$ мм рт.ст.), достоверно выше ($p=0,0155$), чем у женщин ($44,91 \pm 2,02$ мм рт.ст.).

Обсуждение

Неинвазивная оценка ЖАС является целевым показателем для определения индивидуального риска развития ССЗ и раннего обнаружения повреждения сосудов, связанного с АГ и/или атеросклерозом [10]. В настоящее время рекомендуется уделять внимание не только оценке дневного профиля АД, но также суточным СРПВ (ее вариабельности), т.е. показателю, характеризующему эластичность сосудистой стенки, который является одной из ведущих характеристик ее свойств [10,

19]. Нами выявлена значительная вариабельность СРПВ в течение суток. Тем не менее в исследовании не обнаружено влияние полиморфных вариантов гена *CLOCK* на уровень и вариабельность этого показателя у пациентов с нормальным АД. В то же время не исключено, что отсутствие достоверных различий СРПВ у носителей разных генотипов по гену *CLOCK* может быть следствием статистической флуктуации из-за малочисленности выборки. В исследовании обнаружены различия по другим параметрам жесткости и АД у этих же лиц в зависимости от генотипов по исследованным маркерам гена *CLOCK*. Так, ночной A_{ix} в общей группе был несколько ниже у лиц, имеющих в своем генотипе аллели, наличие которых ассоциируется с развитием АГ и ИБС. Достоверные различия этого показателя в зависимости от генотипа регистрировали у мужчин. У женщин этот показатель не зависел от генотипа по исследуемым маркерам и был выше, чем у мужчин, что, вероятно, является следствием гендерных различий в строении сосудистой системы. Максимальный A_{ix} был достоверно ниже у носителей генотипа GG по 257T>G полиморфному маркеру гена *CLOCK*. Повышение ЖАС ассоциируется, как правило, с повышением A_{ix} . Так, нормальные его значения находятся между -30% и -10%. Этот показатель увеличивается с ростом риска развития ССЗ [20]. Роль данного показателя в характеристике жесткости сосудов в отличие от СРПВ не является однозначной. A_{ix} характеризует выраженность отраженной волны и ее вклад в увеличение ПД. A_{ix} зависит не только от жесткости сосудов, но и от ЧСС, АД, самой отраженной волны, процесса сопряжения между деятельностью левого желудочка и сосудов. Возможно, отклонение данного показателя за пределы оптимальных значений может быть связано с повышением вариабельности суточного АД. Действительно, оказалось, что у носителей генотипа CC по 862T>C маркеру гена *CLOCK* достоверно выше показатели утреннего подъема ДАД. А у носителей аллеля G по 257T>G полиморфному маркеру гена *CLOCK* скорость нарастания АД (dp/dt) значительно выше, чем у доноров с генотипом TT. Нами обнаружены также достоверные различия по индексу ASI у мужчин с разными генотипами по полиморфному маркеру 862T>C гена *CLOCK*. Так, у мужчин с генотипом CC по данному маркеру он достоверно выше, чем у гетерозигот и гомозигот по аллелю T. Повышение ASI свидетельствует об увеличении жесткости и снижении эластичности сосудов, что может быть фактором, способствующим повышению САД и ПД и развитию ССЗ. В настоящее время отмечается связь между ASI и риском развития АГ и ИБС. ASI выше 80 мм рт. ст. может указывать на повышение риска развития ИБС [21].

В то же время нами не обнаружено влияние полиморфизма гена *CLOCK* на значения амбулаторного индекса ASI. Известно, что данный показатель коррелирует с аортальной СРПВ, ПД. В крупном проспективном анализе Dublin Outcome Study продемонстрировано, что этот показатель превосходит традиционные ФР и ПД при прогнозе фатальных сердечно-сосудистых осложнений [11].

Таким образом, нами выявлены различия по показателям ЖАС и параметрам АД у носителей разных генотипов по полиморфным маркерам гена *CLOCK*. Хотя суточная вариабельность в физиологии сосудов изучается давно, многие аспекты влияния циркадианного гена *CLOCK* на функцию сосудистой стенки пока неизвестны. На основании собственных данных и информации из литературы можно выдвинуть несколько пред-

положений о вероятных биохимических механизмах участия этого гена, а точнее, транскрипционного фактора, который он кодирует, в изменении параметров ЖАС.

Среди ФР развития ИБС основное значение имеет изменение липидного состава крови, в частности гиперхолестеринемия, которая вносит вклад в атеросклеротическое поражение коронарных артерий при развитии ИБС [22]. АГ является одним из основных ФР развития ИБС, и изменения липидного состава крови при развитии АГ во многом соответствуют изменениям при развитии ИБС [23]. Оказалось, что полиморфизм гена *CLOCK* может быть связан с изменениями состава липидов как у здоровых доноров, так и пациентов с АГ и ИБС [24]. У больных АГ и ИБС с генотипом CC по маркеру 311TT>C гена *CLOCK*, для которого выявлена ассоциация с риском развития АГ и ИБС, зарегистрирован достоверно более высокий уровень ХС ЛНП в плазме крови по сравнению с носителями других генотипов. Оказалось также, что мужчины с генотипом GG имеют более низкий уровень ХС ЛВП по сравнению с носителями других генотипов как в контрольной группе, так и в группах с АГ и ИБС. В то же время известно, что отложение ХС на стенках сосудов способствует снижению их эластичности. В связи с этим можно предположить, что изменения состава липидов в пользу атерогенной фракции у носителей генотипов, для которых показана ассоциация с риском развития этих заболеваний, могут способствовать изменениям показателей жесткости сосудов и повышению АД в будущем.

Эластические свойства сосудов определяются содержанием эластина, коллагена и упорядоченным расположением гладких мышечных клеток. При ряде ССЗ изменяется содержание основных компонентов сосудистой стенки. Так, у пациентов с атеросклерозом отмечено повышение уровня коллагена I типа в стенках восходящей аорты по сравнению со здоровыми донорами [25]. На содержание коллагена и эластина влияют матриксные металлопротеиназы (ММП), специфически гидролизующие белки межклеточного матрикса. У больных АГ по сравнению со здоровыми людьми уровни ММП-1 в сыворотке понижены, а уровни ее тканевого ингибитора (TIMP-1) повышены [26]. Повышение уровней TIMP-1 путем воздействия на активность ММП ведет к снижению утилизации коллагена сосудистой стенки, увеличению ее ригидности, уменьшению эластичных свойств сосудов, что может сопровождаться увеличением ПД, его вариабельности и степени ночного снижения ЧСС [27]. Показано достоверное повышение уровня ММП-9 и TIMP-1 при атеросклерозе по сравнению со здоровыми людьми [28]. В ряде исследований показано достоверное повышение уровня ММП-9 у больных нестабильной стенокардией и ИМ [29].

Появляются сведения о том, что активность некоторых ММП может быть связана с циркадианным ритмом [12]. Так, уровень ММП-9 в сыворотке у пациентов, перенесших ИМ, был выше в светлый период суток [30]. У мышей, нокаутных по гену *Bmal1*, прирост активности ММП-2 и ММП-9 после лигирования сосудов был значительно выше, чем у животных дикого типа [12]. Следовательно, можно предположить, что полиморфные варианты гена *CLOCK*, функциональным партнером которого является ген *BMAL1*, могут влиять на экспрессию и активность ММП. Это влияние, предположительно, может быть опосредовано через изменение уровня активных форм кислорода, оксида азота, ангиотензина II, а также мелатонина. Так, известно, что опосредованный ангиотензином II «сигналинг» участвует в

модификации активности MMP [31]. Кроме этого, ангиотензин II может быть одним из факторов, регулирующих биологические функции через изменение уровня экспрессии циркадианных генов в аорте, почках и сердце. Так, он индуцирует в клетках гладкой мускулатуры мышей значительное повышение уровня экспрессии Per2 [32]. Увеличение активности MMP может быть связано с повышением уровня активных форм кислорода. У мышей, нокаутных по *Bmal1*, активность MMP-2 и MMP-9 в лигированных сосудах зависела от уровня супероксида, повышение которого, скорее всего, было следствием разобщения активности эндотелиальной синтазы оксида азота [33]. Оказалось, что мелатонин, принимающий участие в регуляции циркадианных ритмов, способен модифицировать активность MMP, в частности, он ингибирует MMP-9 [34]. В то же время содержание мелатонина в крови может различаться у носителей разных генотипов по гену *CLOCK*. Так, у здоровых доноров и доноров с повышенным АД, имеющих генотип CC по 3111T>C маркеру, содержание уровня этого гормона в плазме было значительно ниже, чем у носителей других генотипов [7].

Следует отметить, что указанные механизмы влияния гена *CLOCK* на эластичность и жесткость сосудов, очевидно, не являются единственными. В экспериментах с модельными объектами показано, что около 10% транскриптома регулируется циркадианными генами в печени [35], примерно столько же в сердце [36] и гипоталамусе [37]. Циркадианные гены регулируют гены многих ключевых, лимитирующих скорость ферментов метаболизма [38]. Поэтому и механизмы, посредством которых осуществляется связь между циркадианными генами и свойствами сосудистой стенки, могут быть весьма обширными. По-видимому, из списка участников, опосредующих влияние мутаций в циркадианных генах на ЖАС, нельзя исключить АПФ и альдостерон. Хотя такого рода данные еще слабо представлены в литературе.

В нашем исследовании выявлена связь изменений параметров ЖАС и АД у доноров с нормальным АД и полиморфными маркерами гена *CLOCK*, для которых ранее была показана ассоциация с повышением риска развития АГ и ИБС. Этот факт позволяет предположить, что мутации в гене могут оказывать

влияние на ремоделирование сосудистой стенки, что наряду с другими процессами может определять предрасположенность носителей исследованных генотипов к развитию АГ и ИБС.

В заключение следует отметить, что понимание роли циркадианных генов в функции сосудов открывает возможности раннего выявления их повреждения и новые взгляды на терапевтические подходы [2]. Изучение суточных колебаний процессов, происходящих в сосудистой стенке, вероятно, позволит сформировать индивидуальный терапевтический подход.

Выводы

1. У носителей генотипа CC по полиморфному маркеру 862T>C гена *CLOCK* утренний подъем артериального давления достоверно выше, чем у носителей альтернативных генотипов. У мужчин с данным генотипом ночной индекс аугментации достоверно ниже, чем у носителей генотипа TT, а значения индекса жесткости артериальной стенки достоверно выше, чем у гетерозигот.

2. У носителей генотипа TT по полиморфному маркеру 257T>G гена *CLOCK* максимальная скорость подъема артериального давления ниже, чем для носителей аллеля G. У носителей генотипа GG по данному маркеру максимальный индекс аугментации достоверно ниже, чем у носителей альтернативных генотипов.

3. У мужчин с генотипом CC по полиморфному маркеру 3111T>C гена *CLOCK* ночной индекс аугментации достоверно ниже, чем у носителей генотипа TT.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президиума РАН на 2012–2014 гг. «Фундаментальные науки — медицине», № г.р. 01201262105; ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009–2013 гг.», № г.р. 01201056445, ГК № 02.740.11.0700; Гранта Правительства РФ по постановлению №220 (вед. ученый А.Н. Полторак). Работа выполнена в рамках программы стратегического развития Петрозаводского государственного университета.

Сведения об авторах:

Медицинский институт ФГБОУ ВПО Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск

Кафедра факультетской терапии, фтизиатрии, инфекционных болезней и эпидемиологии

Корнева В. А. - к.м.н., доцент кафедры.

Кузнецова Т. Ю. - д.м.н., доцент, зав. кафедрой.

ФГБУН Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

Лаборатория генетики

Курбатова И. В. - к.биол.н., н.с. лаборатории.

Топчиева Л. В. - к.биол.н., вед. н.с. лаборатории.

Коломейчук С. Н. - к.биол.н., ст.н.с. лаборатории.

Немова Н. Н. - д.биол.н., проф., член-корр. РАН, директор Института.

E-mail: vikkorneva@mail.ru

Information about the author:

Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russia

Department of Faculty Therapy

Viktoria A. Korneva - PhD.

E-mail: vikkorneva@mail.ru

Литература/REFERENCES

- Otto M.E., Svatikova A., Barretto R.B., Santos S., Hoffmann M., Khandheria B., Somers V. Early morning attenuation of endothelial function in healthy humans. *Circulation* 2004;109(21):2507–2510.
- Paschos G.K., FitzGerald G.A. Circadian clocks and vascular function. *Circ Res* 2010;106:833–841.
- Voinescu B.I. Clock genes, chronotypes and diseases. *HVM Bioflux* 2009;1(1):19–35.
- Marcheva B., Ramsey K.M., Buhr E.D., Kobayashi Y., Su H., Ko C.H., Ivanova G., Omura C., Mo S., Vitaterna M.H., Lopez J.P., Philipson L.H., Bradfield C.A., Crosby S.D., JeBailey L., Wang X., Takahashi J.S., Bass J. Disruption of the clock components CLOCK and BMAL1 leads to hypoinsulinaemia and diabetes. *Nature* 2010;466(7306):627–631.
- Woon P.Y., Kaisaki P.J., Braganca J., Bihoreau M.T., Levy J.C., Farrall M., Gauguier D. Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like (BMAL1) is associated with susceptibility to hypertension and type 2 diabetes. *PNAS* 2007;104(36):14412–14417.
- Anea C.B., Zhang M., Stepp D.W., Simkins G.B., Reed G., Fulton D.J., Rudic R.D. Vascular disease in mice with a dysfunctional circadian clock. *Circulation* 2009;119:1510–1517.
- Kurbatova I.V., Topchieva L.V., Kolomeichuk S.N., Korneva V.A., Zimenkova K.S. The risk of essential hypertension and coronary artery disease development and some biochemical parameters of blood in carriers of different genotypes for polymorphic markers of the CLOCK gene (in residents of Karelia). *Medical Academic Journal* 2012;12(4):29–31. Russian (Курбатова И.В., Топчиева Л.В., Коломейчук С.Н., Корнева В.А., Зименкова К.С. Риск возникновения эссенциальной артериальной гипертензии и ишемической болезни сердца и некоторые биохимические показатели крови у носителей разных генотипов по полиморфным маркерам гена CLOCK (жителей Республики Карелия). *Медицинский академический журнал* 2012;12(4):29–31).
- Kurbatova I.V., Topchieva L.V., Korneva V.A., Nemova N.N. PAI-1 plasma levels and levels of PAI-1 gene transcripts in buccal cells of donors in control group and patients diagnosed with EAH depending on polymorphic variants of genes CLOCK and BMAL1. II International Internet conference «Medicine in the XXI Century: Traditions and perspectives», Kazan 2013;9–16. Russian (Курбатова И.В., Топчиева Л.В., Корнева В.А., Немова Н.Н. Содержание PAI-1 в плазме крови и уровень транскриптов гена PAI-1 в клетках Buccального эпителия доноров контрольной группы и пациентов с диагнозом ЭАГ в зависимости от полиморфных вариантов генов CLOCK и BMAL1. Сборник трудов II международной Интернет-конференции «Медицина в XXI веке: традиции и перспективы», Казань 2013;9–16).
- Lacolley P., Challande P., Osborne-Pellegrin M., Regnault V. Genetics and pathophysiology of arterial stiffness. *Cardiovasc Res* 2009;81:637–648.
- Laurent S., Boutouyrie P., Asmar R., Gautier I., Laloux B., Guize L., Ducimetiere P., Benetos A. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension* 2001;37(5):1236–1241.
- Dolan E., Thijs L., Li Y., Atkins N., McCormack P., McClory S., O'Brien E., Staessen J.A., Stanton A.V. Ambulatory arterial stiffness index as a predictor of cardiovascular mortality in the Dublin Outcome Study. *Hypertension* 2006;47(3):365–370.
- Anea C.B., Ali M.I., Osmond J.M., Sullivan J.C., Stepp D.W., Merloiu A.M., Rudic R.D. Matrix metalloproteinase 2 and 9 dysfunction underlie vascular stiffness in circadian clock mutant mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010;30(12):2535–2543.
- Desan P.H., Oren D.A., Malison R., Price L.H., Rosenbaum J., Smoller J., Charney D.S., Gelernter J. Genetic polymorphism at the CLOCK gene locus and major depression. *Am J Med Genet* 2000;96(3):418–421.
- Kolomeichuk S.N., Kurbatova I.V., Topchieva L.V., Korneva V.A., Poltorak A.N., Chambers T.C., Nemova N.N. Association between CLOCK genetic variants and individual susceptibility to essential hypertension and coronary artery disease in Russian population. *Exp Clin Cardiol* 2014;20(1):1–17.
- Pedrazzoli M., Louzada F.M., Pereira D.S., Benedito-Silva A.A., Lopez A.R., Martynhak B.J., Korczak A.L., Koike Bdel V., Barbosa A.A., D'Almeida V., Tufik S. Clock polymorphisms and circadian rhythms phenotypes in a sample of the Brazilian population. *Chronobiol Int* 2007;24(1):1–8.
- Koudryavtsev S.A., Lazarev V.M. Validation of the BPLab® 24-hour blood pressure monitoring system according to the European standard Bs En 1060-4:2004 and British hypertension society protocol. *Medical Devices: Evidence and Research* 2011;4:193–196.
- Rogoza A.N., Kuznetsov A.A. Central aortic blood pressure and augmentation index: comparison between Vasotens and ShyymoCor technology. *Clinical cardiology* 2012;3:27–33.
- Moiseeva N.M., Ponomarev Y.A., Sergeeva M.V., Rogoza A.N. Evaluation of main arteries rigidity indices according to the data of bifunctional 24 hour BP and ECG monitoring with the BPLab device. *Arterial hypertension* 2007;1(13):1–6. Russian (Моисеева Н.М., Пономарев Ю.А., Сергеева М.В., Рогоза А.Н. Оценка показателей ригидности магистральных артерий по данным бифункционального суточного мониторирования АД и ЭКГ прибором BPLab. *Артериальная гипертензия* 2007;1(13):1–6).
- Laurent S., Cockcroft J., Van Bortel L., Boutouyrie P., Giannattasio C., Hayoz D., Pannier B., Vlachopoulos C., Wilkinson I., Struijker-Boudier H.; European Network for Non-invasive Investigation of Large Arteries. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J* 2006;27(21):2588–2605.
- Patvardhan E., Heffernan K.S., Ruan J., Hession M., Warner P., Karas R.H., Kuvin J.T. Augmentation index derived from peripheral arterial tonometry correlates with cardiovascular risk factors. *Cardiol Res Pract* 2011;2011:253758.
- Karoli N.A., Dolishnyaya G.P., Rebrov A.P. Arterial stiffness in patients with chronic obstructive lung disease in the presence and absence of ischemic heart disease. *Kardiologiya* 2013;53(7):56–61. Russian (Каполи Н.А., Долишняя Г.П., Ребров А.П. Артериальная ригидность у больных хронической обструктивной болезнью легких с наличием и в отсутствие ишемической болезни сердца. *Кардиология* 2013;53(7):56–61).
- Dzhanashija P.H., Nazarenko V.A., Nikolaenko S.A. Dyslipidemia: clinical features, diagnosis, treatment: study guide. Moscow: RSMU 2003;47 p. Russian (Джанашия П.Х., Назаренко В.А., Николаенко С.А. Дислипидемии: клиника, диагностика, лечение: учеб. пособие. М: РГМУ 2003;47 с).
- Cobbe S.M. Lipids in hypertensive patients. *Am J Hypertens* 1998;11(7):887–889.
- Kurbatova I.V., Topchieva L.V., Kolomeichuk S.N., Korneva V.A., Nemova N.N. The role of circadian gene CLOCK polymorphic variants in the mechanisms of essential hypertension and coronary artery disease development in residents of the Republic of Karelia. *International Forum on Science, Technology and Education «III millennium – new world»*, Moscow: The Academy of Sciences of the Earth 2012:117–119. Russian (Курбатова И.В., Топчиева Л.В., Коломейчук С.Н., Корнева В.А., Немова Н.Н. Роль полиморфных вариантов циркадного гена CLOCK в механизмах развития эссенциальной артериальной гипертензии и ишемической болезни сердца у жителей Республики Карелия. «III тысячелетие – новый мир»: международный форум по проблемам науки, техники и образования: сб. трудов. М.: Академия наук о Земле 2012:117–119).
- Ityuga O.B., Voronkina I.V., Smagina L.V., Uspensky V.E., Tsoy N.V., Gordeev M.L., Moiseeva O.M. Matrix metalloproteinase activity in

- patients with ascending aortic aneurysm of different etiology. *Arterial hypertension* 2010;16(6):587–591. Russian (Иртыга О.Б., Воронкина И.В., Смагина Л.В., Успенский В.Е., Цой Н.В., Гордеев М.Л., Моисеева О.М. Активность матриксных металлопротеиназ у больных с аневризмой восходящего отдела аорты различной этиологии. *Артериальная гипертензия* 2010;16(6):587–591).
26. Laviades C., Varo N., Fernández J., Mayor G., Gil M.J., Monreal I., Díez J. Abnormalities of the Extracellular Degradation of Collagen Type I in Essential Hypertension. *Circulation* 1998;98:535–540.
 27. Mazur N.A., Khezheva F.M. Effect of hypotensive therapy on metalloproteinase activity of the blood in patients with arterial hypertension. *Kardiologiya* 2009;49(2):27–31. Russian (Мазур Н.А., Хежева Ф.М. Влияние гипотензивной терапии на металлопротеиназную активность крови у больных артериальной гипертензией. *Кардиология* 2009;49(2):27–31).
 28. Newby A.C. Dual role of matrix metalloproteinases (matrixins) in intimal thickening and atherosclerotic plaque rupture. *Physiol Rev* 2005;85:1–31.
 29. Kelly D., Cockerill G., Ng L.L., Thompson M., Khan S., Samani N.J., Squire I.B. Plasma matrix metalloproteinase-9 and left ventricular remodelling after acute myocardial infarction in man: a prospective cohort study. *Eur Heart J* 2007;28(6):711–718.
 30. Dominguez-Rodriguez A., Abreu-Gonzalez P., Garcia-Gonzalez M.J., Reiter R.J. Relation of nocturnal melatonin levels to serum matrix metalloproteinase-9 concentrations in patients with myocardial infarction. *Thromb Res* 2007;120(3):361–366.
 31. Park S., Lakatta E.G. Role of inflammation in the pathogenesis of arterial stiffness. *Yonsei Med J* 2012;53(2):258–261.
 32. Nonaka H., Emoto N., Ikeda K., Fukuya H., Rohman M.S., Raharjo S.B., Yagita K., Okamura H., Yokoyama M. Angiotensin II induces circadian gene expression of clock genes in cultured vascular smooth muscle cells. *Circulation* 2001;104(15):1746–1748.
 33. Anea C.B., Cheng B., Sharma S., Kumar S., Caldwell R.W., Yao L., Ali M.I., Merloiu A.M., Stepp D.W., Black S.M., Fulton D.J., Rudic R.D. Increased superoxide and endothelial NO synthase uncoupling in blood vessels of Bmal1-knockout mice. *Circ Res* 2012;111(9):1157–1165.
 34. Rudra D.S., Pal U., Maiti N.C., Reiter R.J., Swarnakar S. Melatonin inhibits matrix metalloproteinase 9 activity by binding to its active site. *J Pineal Research* 2013;54(4):398–405.
 35. Akhtar R.A., Reddy A.B., Maywood E.S., Clayton J.D., King V.M., Smith A.G., Gant T.W., Hastings M.H., Kyriacou C.P. Circadian cycling of the mouse liver transcriptome, as revealed by cDNA microarray, is driven by the suprachiasmatic nucleus. *Curr Biol* 2002;12(7):540–550.
 36. Storch K.F., Lipan O., Leykin I., Viswanathan N., Davis F.C., Wong W.H., Weitz C.J. Extensive and divergent circadian gene expression in liver and heart. *Nature* 2002;417(6884):78–83.
 37. Panda S., Antoch M.P., Miller B.H., Su A.I., Schook A.B., Straume M., Schultz P.G., Kay S.A., Takahashi J.S., Hogenesch J.B. Coordinated transcription of key pathways in the mouse by the circadian clock. *Cell* 2002;109(3):307–320.
 38. Oishi K., Miyazaki K., Kadota K., Kikuno R., Nagase T., Atsumi G., Ohkura N., Azama T., Mesaki M., Yukimasa S., Kobayashi H., Iitaka C., Umehara T., Horikoshi M., Kudo T., Shimizu Y., Yano M., Monden M., Machida K., Matsuda J., Horie S., Todo T., Ishida N. Genome-wide expression analysis of mouse liver reveals CLOCK-regulated circadian output genes. *J Biol Chem* 2003;278(42):41519–41527.

Поступила 14.04.15 (Received 14.04.15)