

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

УДК 575.113, 616.1

ЦИРКАДНЫЕ ГЕНЫ И СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫЕ ПАТОЛОГИИ

И. В. Курбатова, Л. В. Топчиева, Н. Н. Немова

Институт биологии Карельского научного центра РАН

Изложены современные представления о молекулярно-генетических механизмах генерации циркадных ритмов, обобщены данные литературы о связи физиологических функций органов сердечно-сосудистой системы с циркадными ритмами, а также о молекулярно-генетических и биохимических механизмах влияния циркадных генов на развитие сердечно-сосудистых патологий. Проанализированы данные литературы о роли однонуклеотидных замен в циркадных генах в этиологии и патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний.

К л ю ч е в ы е с л о в а: сердечно-сосудистые заболевания, гены циркадного ритма, полиморфизм.

I. V. Kurbatova, L. V. Topchieva, N. N. Nemova. CIRCADIAN GENES AND CARDIOVASCULAR PATHOLOGY

The modern concepts of molecular and genetic mechanisms of circadian rhythms generation are described; the literature on the relationship of physiological functions of the cardiovascular system with circadian rhythms, as well as molecular genetic and biochemical mechanisms of circadian genes influence on the development of cardiovascular pathologies, is reviewed. Published data on the role of single nucleotide substitutions in the circadian genes in the etiology and pathogenesis of cardiovascular diseases are analyzed.

К e y w o r d s: cardiovascular diseases, circadian genes, polymorphism.

Введение

Биологические ритмы – фундаментальное свойство организмов, обеспечивающее их способность к адаптации и выживанию в циклически меняющихся условиях внешней среды. Центральное место среди ритмических процессов занимает циркадный ритм, он относится к группе ритмов средних частот и имеет

наибольшее значение для организма [Halberg, Reinberg, 1967], поскольку практически все физиологические и биохимические процессы организма подвержены суточным колебаниям [Otto et al., 2004]. Циркадные ритмы организма запрограммированы системой циркадных генов, среди которых особое место занимают гены, кодирующие транскрипционные факторы, например CLOCK и BMAL1 [Voinescu, 2009].

В настоящее время не подвергается сомнению важная роль системы циркадных генов и кодируемых ими белков в регуляции метаболизма. В экспериментах с модельными объектами было показано, что около 10 % транскриптома регулируется циркадными генами в печени [Akhtar et al., 2002], примерно столько же в сердце [Storch et al., 2002] и гипоталамусе [Panda et al., 2002]. Циркадные гены регулируют гены многих ключевых, скорость-лимитирующих ферментов метаболизма [Oishi et al., 2003]. Среди них гены, участвующие в процессах фолдинга и деградации белков, метаболизма глюкозы и липидов [Rudic et al., 2005]. Нарушения молекулярных механизмов регуляции циркадных ритмов, а именно – работы циркадных генов, могут приводить к дисрегуляции метаболических процессов [Marcheva et al., 2010] и развитию ряда патологий, в том числе кардиоваскулярных расстройств [Takeda, Maemura, 2011].

В литературе появляется все больше сведений о том, что мутации в циркадных генах ассоциируются с развитием ряда полигенных заболеваний, таких как рак [Chu et al., 2008], метаболический синдром [Scott et al., 2008], диабет 2 типа [Woon et al., 2007]. Также все чаще циркадные гены рассматриваются как гены-кандидаты, участвующие в этиологии и патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [Curtis et al., 2007; Woon et al., 2007; Anea et al., 2009]. Однако механизмы, посредством которых циркадные гены могут участвовать в развитии сердечно-сосудистых патологий, мало изучены. В данном обзоре приводится имеющаяся в литературе информация о роли циркадных генов в функционировании сердечно-сосудистой системы и формировании ССЗ.

Молекулярно-генетические механизмы генерации циркадных ритмов

Циркадным ритмом млекопитающих управляет супрахиазматическое ядро (СХЯ), расположенное в головном мозге в основании гипоталамуса. СХЯ способно генерировать собственный автономный циркадный ритм, а также подчинять ритму другие системы организма. Под влиянием внешнего освещения СХЯ посредством химических сигналов (цАМФ, протеин-киназа С, глюкокортикоиды, ионы Ca^{2+}) синхронизирует периферические осцилляторы в тканях, вызывая экспрессию генов циркадного ритма, ответственных за цикличность биохимических процессов и запускающих транскрипцию соответствующих генов [Gachon et al.,

2004]. СХЯ передает сигнал в периферические органы и ткани организма, роль посредника в этом процессе выполняет мелатонин эпифиза [Claustrat et al., 2005].

Известно, что часовые механизмы СХЯ и периферических осцилляторов сходны на молекулярном уровне. Они включают сеть транскрипционно-трансляционных циклов обратной связи, в основе которых лежит периодическая 24-часовая экспрессия молекулярных компонентов [Dunlap, 1999]. Основные гены, участвующие в генерации циркадного ритма у млекопитающих, представлены тремя группами [Von Schantz, 2008]:

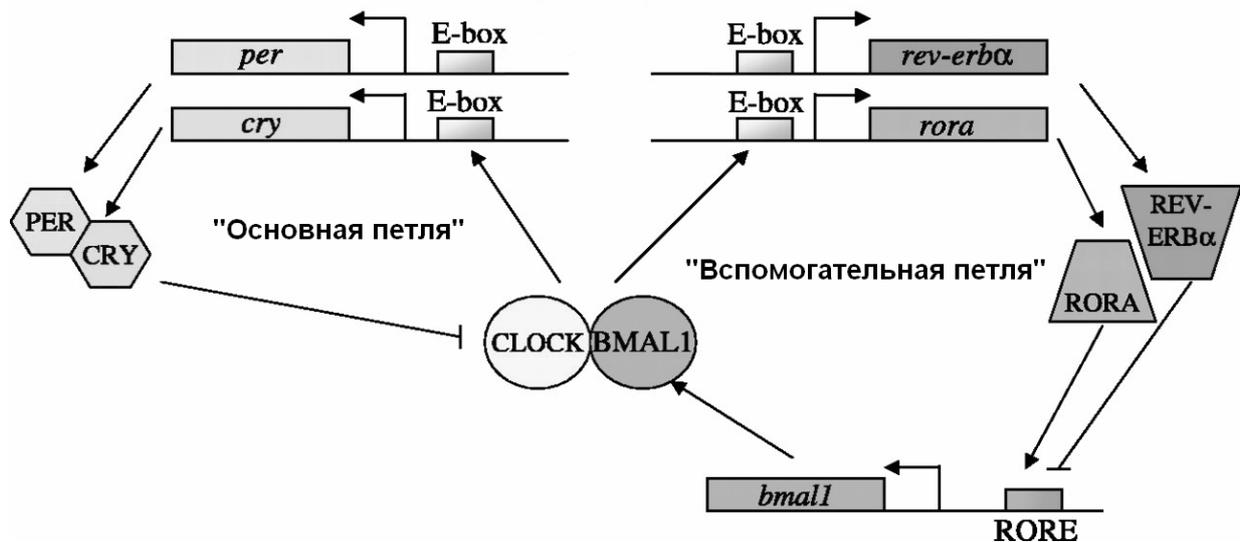
1. Гены первой группы. Кодируют позитивные транскрипционные факторы, содержащие PAS-домены (многофункциональные домены для димеризации белков) и мотив bH-L-H. Мотив bH-L-H содержит основной домен (basic domain) для связывания ДНК и мотив «спираль-петля-спираль» (helix-loop-helix), участвующий в димеризации белков. К позитивным транскрипционным факторам относятся CLOCK и BMAL1.

2. Гены второй группы. Кодируют факторы отрицательной обратной связи с колеблющейся экспрессией, приблизительно с 24-часовым суточным циклом. К этой группе относятся 3 гена *Period (Per)* и 2 гена *Cryptochrome (Cry)*.

3. Гены третьей группы. Кодируют протеинкиназы, действующие на компоненты первых двух групп. Для циркадных систем характерно участие нескольких изоформ казеин-киназы I (CK1), включая CK1 δ и CK1 ϵ [Eide et al., 2002, 2005]. Эти ферменты регулируют стабильность некоторых белковых компонентов циркадных механизмов (например, белков PER1 и PER2) посредством фосфорилирования последних в цитоплазме [Camacho et al., 2001].

Рассмотрим регуляцию экспрессии циркадных генов на уровне транскрипции и участие в ней основных молекулярных компонентов. Условно выделяют две транскрипционные петли [Dickmeis, 2009] (рис.).

«Основная петля». Транскрипционные факторы CLOCK и BMAL1 образуют гетеродимер и связываются с последовательностью E-box генов-мишеней. E-box последовательность признана консенсусной последовательностью узнавания промоторов димером транскрипционных факторов CLOCK:BMAL1 и представляет собой гексануклеотидную последовательность. Транскрипционный фактор, содержащий на N-конце область, обогащенную основными аминокислотами (basic-домен), связывается с E-box последовательностью гена-мишени и регулирует их транскрипцию [Oishi et al., 2003]. Так активируется



Молекулярно-генетический механизм циркадных ритмов [Dickmeis, 2009]

транскрипция генов *Period* и *Cryptochrome*, белковые продукты которых также образуют димер, претерпевают транслокацию из цитоплазмы в ядро, ингибируя активность димера CLOCK:BMAL1. Таким образом, выключается транскрипция генов *per* и *cry*. Посттранскрипционные и посттрансляционные модификации препятствуют накоплению в ядре белков PER и CRY, что приводит к ритмичной активации и репрессии промоторов *Per* и *Cry* с периодом в 24 часа [Takahashi et al., 2008].

«Вспомогательная петля». Димер CLOCK:BMAL1 связывается с E-box промоторов генов *Rev-erba* и *Rora*. RORA и REV-ERB независимо перемещаются в ядро, где конкурируют за связывание с последовательностью одиночного ядерного рецептора, которая носит название RORE-последовательности (AAAGTAGGTCA) в промоторной области *Bmal1*. RORA, связываясь с последовательностью RORE промотора гена *Bmal1*, активирует транскрипцию данного гена. REV-ERB конкурирует с RORA за связывание с сайтом RORE и подавляет транскрипцию *Bmal1*. Антагонистические эффекты RORA и REV-ERB на транскрипцию *Bmal1* генерируют ритмический уровень BMAL1 и, таким образом, CLOCK:BMAL1. Хотя эта вспомогательная петля не существенна для генерации ритма, она вносит определенный вклад в устойчивость и свойства фазового сдвига молекулярных часов [Takahashi et al., 2008].

Описанные авторегуляторные циклы обратной связи генерируют 24-часовой цикл и составляют циркадные молекулярные часы. Большинство часовых компонентов, матричных РНК и белков, колеблются с периодом 24 часа, за исключением CLOCK, CK1 δ и CK1 ϵ , которые

являются критическими факторами, регулирующими оборот основных циркадных протеинов у млекопитающих [Von Schantz, 2008].

Обнаружено, что безъядерные клетки – эритроциты – обладают собственной циркадной системой [O'Neill, Reddy, 2011]. Предполагается, что, в отличие от клеток, содержащих ядро, они не используют систему транскрипционно-трансляционных петель обратной связи, однако молекулярные механизмы регуляции циркадных ритмов в безъядерных клетках остаются неизученными.

Под контролем циркадных генов находятся многие биологические процессы организма; так, на мышах показано, что 8–10 % их транскриптома регулируется именно генами циркадных ритмов [Storch et al., 2002]. В последнее время стали известны многие гены-мишени, экспрессия которых регулируется продуктами циркадных генов. В иностранной литературе для обозначения этих генов-мишеней используется выражение «*clock control genes*» («CCG»). Например, исследование транскриптома в аорте мышей показало, что из 7000 проанализированных генов около половины экспрессируются по циркадному типу; среди них гены, участвующие в процессах фолдинга и деградации белков, метаболизма глюкозы и липидов, созревании адипоцитов [Rudic et al., 2005].

Возможны два механизма регуляции экспрессии генов-мишеней циркадными генами. В одном случае белки, кодируемые циркадными генами, непосредственно взаимодействуют с генами-мишенями, связываясь с E-box последовательностями этих генов. Есть сведения, что в эндотелии сосудов экспрессия 29 генов регулируется белками CLOCK и BMAL1

[Maemura et al., 2007]. Димер CLOCK:BMAL1 индуцирует экспрессию генов аргинин-вазопрессина, некоторых транскрипционных факторов [Young, 2006], тромбомодулина [Takeda et al., 2007], ингибитора активатора плазминогена первого типа (PAI-1) в сердечно-сосудистых тканях [Schoenhard et al., 2003], гена Na^+/H^+ -транспортера (*NHE3*) почечного эпителия [Saifur et al., 2005]. Такие пептиды, как аргинин-вазопрессин, трансформирующий фактор роста- α (TGF α), прокинетицин-2 (PK2), секреция которых регулируется циркадными генами, участвуют в процессах внеклеточного сигналинга, контроле поведенческих и нейроэндокринных циклов [Reppert, Weaver, 2002]. Не только позитивные транскрипционные факторы CLOCK и BMAL1 способны напрямую регулировать экспрессию генов-мишеней, но и белки, кодируемые другой группой циркадных генов. Например, белок PER1 участвует в экспрессии гена натриевых каналов *ENaC* [Gumz et al., 2009], белок PER2 участвует в регуляции циркадных колебаний экспрессии гена *PAI-1* [Oishi et al., 2009].

Другой механизм регуляции экспрессии генов-мишеней циркадными генами представляет собой опосредованное влияние на экспрессию генов через транскрипционные факторы, такие как DBP, HLF и TEF, чья экспрессия находится под прямым контролем CLOCK:BMAL1, и bHLH-протеины DEC1 и DEC2, которые координируют каскады экспрессии циркадных генов [Honma et al., 2002]. Например, в печени циркадный протеин DBP регулирует экспрессию цитохромов P450 типов 7a и 2a4 [Hastings et al., 2003].

В последнее время показано, что в регулирование циркадных ритмов на молекулярном уровне включены процессы ремоделирования хроматина. Хотя комплексы CLOCK:BMAL1 связываются с E-бокс последовательностями ДНК генов-мишеней во время всех фаз цикла, активация генной экспрессии зависит от циркадного ремоделирования хроматина [Etchegaray et al., 2003]. Показано, что белок CLOCK обладает активностью ацетилтрансферазы гистонов [Doi et al., 2006]. Гистоновое регулирование является важным механизмом в изменении генной экспрессии сердечной ткани, эти процессы лежат в основе роста, восстановления и ремоделирования [Backs, Olson, 2006].

Таким образом, регуляция циркадных ритмов представляет собой сложную систему взаимодействий многих участников. Приведенный краткий обзор известных данных о механизмах циркадных ритмов свидетельствует о важности, адаптивном значении для организма

и чрезвычайной сложности регуляции эндогенных биологических ритмов. Согласованная организация циркадной системы организма важна для поддержания гомеостаза, и нарушение регуляции циркадного ритма может вносить вклад в развитие заболеваний.

Циркадные гены сердечно-сосудистой системы. Связь физиологических функций органов сердечно-сосудистой системы с циркадными ритмами

Центральный водитель циркадного ритма – СХЯ гипоталамуса – регулирует циркадную периодичность физиологических функций посредством сигналов нервной и гуморальной систем, которые запускают изменения экспрессии генов, являющихся мишенями для циркадных генов. Кроме того, каждый орган имеет свою систему биологических часов, которые называются периферическими часами. Ритмическая экспрессия часовых генов показана в сердце, аорте, почках. Каждая ткань или клетка сердечно-сосудистой системы, включая кардиомиоциты, клетки гладкой мускулатуры, эндотелия, имеет внутренний биологический ритм [Maemura et al., 2007].

Физиологические функции органов сердечно-сосудистой системы тесно связаны с циркадными ритмами. Частота сердечных сокращений, кровяное давление и функционирование эндотелия сосудов изменяются в течение суток. В современном обществе ритм жизни не соответствует внутреннему циркадному ритму организма человека, что приводит к циркадным стрессам, которые могут вносить вклад в этиологию хронических заболеваний, в том числе сердечно-сосудистых патологий [Rajaratnam, Arendt, 2001]. Нарушение синхронизации между внутренними ритмами и внешними стимулами может вызывать повреждение органов сердечно-сосудистой системы.

В развитие сердечно-сосудистых заболеваний может вносить вклад десинхронизация центральных и периферических часов организма [Takeda, Maemura, 2011]. Об этом свидетельствует тот факт, что у людей, работающих по сменному скользящему графику, повышен риск смерти от ССЗ по сравнению с людьми, работающими по фиксированному графику [Fujino et al., 2006]. Есть предположение, что периферические часы используются сердечно-сосудистой системой для предсказания и подготовки к действию возможных внешних стимулов, таких как повышение кровяного давления в утренние часы. Например, в кардиомиоцитах мышей экспрессируется с циркадной перио-

дичностью натрий-уретический пептид, который выступает в качестве кардиопротективного агента, защищая кардиомиоциты от резкого повышения кровяного давления. Таким образом, десинхронизация центральных и периферических часов организма может осложнять развитие кардиоваскулярных патологий [Takeda, Maemura, 2011].

Имеются сведения об изменениях в системе периферических часов сердечно-сосудистой системы при формировании этих патологий. Например, в гипертрофированном миокарде крыс утрачивается ритмичность экспрессии некоторых циркадных генов (например, генов транскрипционных факторов *Dbp*, *Hlf* и других) [Young et al., 2001b]. В другом исследовании у крыс наблюдалось ослабление ритмичности экспрессии циркадных генов в тех областях сердца, где развивалось ишемическое повреждение [Kung et al., 2007]. Выявлена общая тенденция снижения уровней транскриптов циркадных генов *CLOCK*, *BMAL1* и *PER1* в буккальном эпителии у пациентов, страдающих эссенциальной артериальной гипертензией, по сравнению с контролем [Курбатова и др., 2013b].

Показано, что нарушение внутреннего ритма у мышей при содержании в условиях нехарактерного режима освещения приводит к ослаблению работы сердца, но при возвращении к нормальному режиму освещения активность работы сердца восстанавливается. Однако восстановления сердечной активности не происходит у мышей, мутантных по циркадным генам и имеющих внутренний ритм с периодом менее 22 часов [Martino et al., 2007]. Эти результаты свидетельствуют о том, что в развитие сердечно-сосудистых патологий вносит вклад десинхронизация между внутренними ритмами и внешними стимулами. Нормальная организация циркадной системы организма важна для поддержания гомеостаза, и нарушение регуляции циркадного ритма может индуцировать развитие сердечно-сосудистых заболеваний.

Известно, что циркадному ритму подчиняется время, при котором проявляются или обостряются кардиоваскулярные патологии, например, желудочковая тахикардия [Yamashita et al., 1997], геморрагический инфаркт головного мозга [Ricci et al., 1992], инфаркт миокарда [Casetta et al., 2002] и другие. Например, инфаркт миокарда у людей наиболее часто приходится на период с 6.00 до 12.00, наиболее редко – с 3.00 до 6.00. Относительный риск инфаркта миокарда на 40 % выше в утренние часы [Cohen et al., 1997]. Это связано с циркадной активацией сердечно-сосудистой системы

перед пробуждением. Более того, циркадной периодичностью вазодилатации [Elherik et al., 2002], кровяного давления, частоты сердечных сокращений [Rocco et al., 1987] объясняется 9 % всех инфарктов [Cohen et al., 1997]. Установлено, что часы непосредственно после пробуждения являются критическим периодом для патологических нарушений у людей, страдающих ССЗ [Goldberg et al., 1990]. В настоящее время в медицине формируется подход к назначению той или иной терапии, при котором учитываются циркадные ритмы физиологических процессов. Например, известно, что бета-блокаторы, сглаживающие циркадную активацию вегетативной нервной системы, позволяют значительно снизить риск обострения кардиоваскулярных патологий в утренние часы [Onaka et al., 1998]. Разработаны препараты пролонгированного действия для снижения артериального давления, которые принимаются в позднее время суток и действуют в утренние часы [White et al., 2002].

Ряд исследований подтверждают, что синхронизация времени начала патологических сердечно-сосудистых событий связана непосредственно с внутренним циркадным механизмом. Например, в ретроспективном исследовании смертности от сердечного приступа на Гавайях было обнаружено, что пик смертности местных жителей приходится на интервал с 6.00 до 12.00, однако для недавно поселившихся в данном регионе японцев пик смертности приходится на период с 12.00 до 16.00, что соответствует раннему утру в Японии [Couch, 1990].

В настоящее время в ряде исследований показано наличие циркадных генов в различных тканях сердечно-сосудистой системы. Так, Young показал суточное изменение в сердце крыс экспрессии основных часовых генов, таких как *Per* и *Bmal1* [Young, 2003]. Rudic и коллеги изучали генную экспрессию в аорте в условиях циркадной ритмичности и продемонстрировали, что циркадная периодичность характерна для многих генов, участвующих в поддержании структурной целостности сосудов и их метаболизма [Rudic et al., 2005]. Появляются некоторые данные и о механизмах влияния циркадных генов на транскрипционную активность генов клеток миокарда. Оказывается, они могут участвовать в регуляции генной экспрессии сердечной ткани посредством ремоделирования структуры хроматина [Backs, Olson, 2006].

Показано существование циркадных генов в эндотелии и клетках гладкой мускулатуры сосудов [McNamara et al., 2001]. Регуляция сосудистого тонуса и фибринолитической активности в эндотелиальных клетках изменяются

с циркадной периодичностью [Adreotti, Kluff, 1991; Guney et al., 1999]. Эндотелий-зависимая вазодилатация обладает циркадной ритмичностью [Otto et al., 2004]. Кроме того, продемонстрирована роль циркадных генов в функционировании эндотелия. Например, у мышей с мутацией гена *Per2* нарушена эндотелий-зависимая релаксация в ответ на ацетилхолин [Viswambharan et al., 2007]. Также выявлено, что у мышей, мутантных по *Bmal1* и *Clock*, наблюдается дисфункция эндотелия и утрата способности адаптироваться к тромбозу [Anea et al., 2009].

Клетки гладкой мускулатуры сосудов также имеют систему циркадных генов, экспрессия которых индуцируется анафилактическим шоком, ангиотензином II и ретиноевой кислотой [McNamara et al., 2001; Nonaka et al., 2001]. В гладкомышечных клетках сосудов циркадные гены регулируют экспрессию тканевых ингибиторов металлопротеиназ 1 и 3, коллагена 3a1, трансгелина 1 и кальпонина 1 [Maruo et al., 2006]. Показано, что в процессе старения клеток гладкой мускулатуры человека снижается экспрессия циркадных генов. Оказалось, что утрата циркадной периодичности в клетках при старении связана с укорочением теломер и снижением активации протеинов, связывающих цАМФ-чувствительные элементы [Kunieda et al., 2006].

Кардиомиоциты также имеют свою систему циркадных генов [Leibetseder et al., 2009]. Норадреналин индуцирует в кардиомиоцитах циркадную экспрессию изозима 4 киназы пируватдегидрогеназы. Кроме того, циркадными генами регулируется экспрессия транскриптов генов транспортеров глюкозы 1 и 4, гликоген-синтазы мышц и атриального натрий-уретического пептида [Young et al., 2001a]. Обнаружено, что экспрессия генов калиевых каналов также изменяется с циркадной периодичностью [Yamashita et al., 2003]. Показано, что циркадные гены кардиомиоцитов человека регулируют экспрессию некоторых генов, участвующих в метаболизме жирных кислот, триглицеридов и гликогена [Durgan et al., 2006].

В настоящий момент имеются данные литературы по изучению кардиомиоцит-специфической функции циркадных генов. Авторы использовали модель мутантных мышей с измененными часовыми генами, которые экспрессируются специфично в кардиомиоцитах – модель названа авторами «*CCM (Cardiomyocyte-specified Clock Mutant) mice*» [Durgan et al., 2006]. В кардиомиоцитах определено несколько метаболических генов, которые находятся под контролем циркадных генов; в эту группу входят гены, кодирующие регуляторы процессов липолиза (адипонутрин)

и липогенеза (диацилглицерол ацилтрансферазу 2) [Durgan et al., 2006]. Bray с соавторами идентифицировали в кардиомиоцитах предсердий и желудочков соответственно 548 и 176 генов, которые потенциально могут регулироваться периферическими циркадными генами. Среди них гены, участвующие в липогенезе (ген 1-ацилглицерол-3-фосфат-О-ацилтрансферазы), и ген, кодирующий липид-связывающий белок перилипин 4, для которых обнаружена циркадная периодичность [Bray et al., 2008]. В данных исследованиях было установлено, что циркадная периодичность экспрессии идентифицированных генов снижена или утрачена у мутантных мышей по сравнению с контролем. Таким образом, часовые гены кардиомиоцитов влияют на метаболизм триглицеридов миокарда посредством регуляции генов, вовлеченных в процессы липогенеза и липолиза.

Известно, что циркадные гены кардиомиоцитов играют роль в метаболизме жирных кислот [Young, 2006]. Около 70 % жирных кислот утилизируются в сердце. В случае резкого повышения количества жирных кислот в сердце активируются пути метаболизма жирных кислот: окислительный (митохондриальное β -окисление) и неокислительный (синтез триглицеридов, или так называемый «липотоксический» путь) [Allard et al., 1994]. В избытке жирные кислоты могут подавлять сократительную функцию сердца, включаясь в липотоксический путь метаболизма [Young, 2009]. Изменение уровней циркулирующих жирных кислот и липидов имеет четкую циркадную периодичность [Ueberberg et al., 1984]. На грызунах показано, что интенсивность неокислительного пути метаболизма жирных кислот изменяется по циркадному типу; во время фазы сна/освещения наблюдается увеличение синтеза фосфолипидов, диацилглицерола и триацилглицерола. В экспериментах на крысах обнаружено, что избыток жирных кислот в определенное время циркадных суток приводит к подавлению сократительной функции сердца [Durgan et al., 2006, 2007]. Кроме синтеза триглицеридов, циркадные гены регулируют метаболизм гликогена. Содержание гликогена в сердце крыс повышается во время фазы бодрствования/темноты и понижается во время сна/освещения [Durgan et al., 2007].

Таким образом, известные данные позволяют сделать предположение, что система циркадных генов оказывает влияние на метаболизм эндогенных энергетических запасов кардиомиоцитов (триглицериды и гликоген) [Takeda, Maemura, 2010]. Кроме того, было показано, что экспрессия и субклеточное распре-

деление белка CLOCK изменяется в зависимости от фазы сократительного цикла. CLOCK локализован в Z-дисках саркомера и выполняет функцию сенсора активности миофиламентов (энергетического статуса) [Qi, Boateng, 2006].

Механизмы влияния циркадных генов на развитие сердечно-сосудистых патологий

В настоящее время накоплены данные, подтверждающие роль циркадных ритмов в развитии сердечно-сосудистых патологий. Суточным ритмам подвержены вазомоторная активность [Otto et al., 2004], агрегация тромбоцитов [Andrews et al., 1996] и другие показатели, участвующие в процессах тромбоза и тромболизиса. В последнее время появляется все больше сведений о том, что у животных, нокаутных по генам циркадного ритма, в том числе *Clock* и *Bmal1*, формируются фенотипы, связанные с патологией сердечно-сосудистой системы. Например, у нокаутных по гену *Bmal1* и мутантных по интрону 19 гена *Clock* животных наблюдается утрата способности адаптироваться к тромбозу, патологическое ремоделирование сосудов, повышение уровня PAI-1 в крови и снижение экспрессии фосфорилированной NO-синтазы по сравнению с животными дикого типа [Anea et al., 2009]. Lefta и соавторы показали, что у мышей, нокаутных по гену *Bmal1*, с возрастом развивается дилатационная кардиомиопатия, которая связана с изменениями в составе титина (полипептида поперечно-полосатых мышц), изменениями экспрессии гена тяжелой цепи миозина и нарушением структуры саркомера [Lefta et al., 2012]. Также приводятся данные о нарушении суточного ритма артериального давления у модельных животных, нокаутных по циркадным генам. Например, сообщается, что делеция *Bmal1* аннулирует 24-часовой ритм артериального давления посредством снижения продукции катехоламинов, вызывает нарушение симпатoadреналовой функции [Curtis et al., 2007]. Нокаут по другим циркадным генам – *Cry1/2* – приводит к солезависимой гипертензии [Doi et al., 2010].

На основании данных литературы можно выделить ряд механизмов, посредством которых циркадные гены могут вносить вклад в развитие сердечно-сосудистых патологий.

Сердце имеет собственную систему циркадных генов, которая способна участвовать в адаптации к возможным циркадным изменениям физиологических потребностей [Young et al., 2001a]. В настоящее время на мышах показано, что толерантность кардиомиоцитов к ишемическому повреждению может изменяться в зави-

симости от времени суток. У мышей, мутантных по циркадным генам, эта периодичность отсутствует, что указывает на возможную опосредованность таких изменений циркадной системой кардиомиоцитов [Takeda, Maemura, 2011].

In vitro показано, что сократительная функция сердца крыс имеет циркадную периодичность, которая поддерживается циркадными изменениями в окислительном метаболизме. Имеют место изменения циркадных ритмов экспрессии генов-мишеней циркадных генов, участвующих в процессах утилизации углеводов, митохондриального окисления, метаболизма жирных кислот [Young et al., 2001a]. В ходе исследований, проводимых на крысах, установлено, что при экспериментально индуцированной гипертрофии миокарда ослаблена циркадная экспрессия транскрипционного фактора DBP [Young et al., 2001b], а при индуцированной гипертензии наблюдается значительное повышение амплитуды циркадного ритма накопления (синтеза) мРНК-компонентов ренин-ангиотензиновой системы (ренина, ангиотензиногена, АПФ и ангиотензина 1 и 2) [Naito et al., 2002]. В условиях сократительной дисфункции, которая приводит к нарушению циркадной периодичности некоторых генов, сердечная ткань оказывается менее способной подготавливаться к увеличению физиологических потребностей, что способствует метаболическому кризису [Hastings et al., 2003]. Таким образом, один из возможных механизмов, посредством которых циркадные ритмы могут вносить вклад в развитие сердечно-сосудистых патологий, – нарушение в функционировании системы циркадных генов сердца в условиях сократительной дисфункции и, как следствие, изменение циркадных ритмов генов-мишеней.

Другой возможный механизм предполагает влияние циркадных генов на ритм кровяного давления. Известно, что кровяное давление изменяется в течение суток, пик приходится на утренние часы. Изменения в циркадной периодичности кровяного давления вносят вклад в сердечно-сосудистые расстройства. Так, утренний пик артериального давления сохраняется при гипертензии [Lemmer, 1996]. Регулируют суточные изменения кровяного давления внутренние и внешние факторы. К внутренним факторам относятся вегетативная нервная система и гуморальные факторы: кортизол, ренин, альдостерон, вазоактивный интестинальный пептид, атриальный натрий-уретический пептид. Внешние факторы включают физическую активность, эмоциональное состояние, рацион питания и другие [Takeda, Maemura, 2010].

Точные механизмы суточных изменений кровяного давления неизвестны. Однако предполагается влияние внутренних часовых механизмов на ритм кровяного давления. Некоторые гены, связанные с молекулярными часами организма, определяют активность ферментов, вовлеченных в регуляцию артериального давления и плазменных уровней адреналина и норадреналина. *Bmal1*, *Clock* и *Npas2* оказывают специфическое влияние на циркадные изменения артериального давления. Оказалось, что делеция *Bmal1* аннулирует 24-часовой ритм артериального давления посредством снижения продукции катехоламинов, но не влияет на более короткие ультрадианные ритмы. Мутация *Clock* значительно уменьшает и циркадные, и ультрадианные ритмы. У мышей с удаленным *Bmal1* и мутировавшими *Clock* и *Npas2* отмечалось нарушение симпатoadреналовой функции, что указывало на вовлеченность в регуляцию симпатoadреналовой системы молекулярных часов посредством фенилэтаноламин-N-метилтрансферазы, которая участвует в синтезе катехоламинов, моноаминоксидазы В и катехол-О-метилтрансферазы. Делеция *Bmal1* сглаживала реакцию катехоламинов и артериального давления на стресс независимо от времени суток [Curtis et al., 2007].

В литературе имеются данные об участии рецептора активатора пролиферации пероксисом гамма (PPAR) в регуляции суточного ритма кровяного давления. PPAR экспрессируется в аорте по циркадному типу и, связываясь с промотором *Bmal1*, активирует его транскрипцию. Делеция PPAR в клетках эндотелия и гладкой мускулатуры сосудов приводит к ослаблению суточного ритма кровяного давления [Wang et al., 2008].

Еще один механизм регуляции кровяного давления представляет собой опосредованное влияние циркадных генов на уровень минералокортикоидного гормона альдостерона, который увеличивает реабсорбцию ионов натрия и воды и уменьшает поглощение ионов калия в почках. Уровень альдостерона в плазме изменяется по циркадному типу, пик приходится на период сна. У мышей с нокаутированным геном *Cry1/2* наблюдается постоянно высокий уровень альдостерона. Один из ферментов, участвующих в синтезе альдостерона, 3 β -гидроксил-стероид дегидрогеназа VI, экспрессируется с циркадной периодичностью у мышей с нормальными *Cry1/2*. Однако экспрессия данного фермента у мышей с нокаутированными генами *Cry1/2* постоянно повышена, что приводит к солезависимой гипертензии [Doi et al., 2010]. Альдостерон также регулирует экспрес-

сию альфа-субъединицы натриевых каналов почечного эпителия, что может быть опосредовано регуляцией уровня экспрессии гена *Per1* [Gumz et al., 2009]. Мутации в циркадных генах вызывают изменения в гомеостазе водно-солевого обмена. Например, показано, что экспрессия гена *NHE3* (Na⁺/H⁺-транспортера почечного эпителия) регулируется непосредственно гетеродимерами CLOCK:BMAL1, которые связываются с промотором гена *NHE3* [Saifur et al., 2005].

В настоящее время установлено, что один из важнейших компонентов ренин-ангиотензиновой системы, регулирующей кровяное давление, – ангиотензин II – индуцирует в клетках гладкой мускулатуры мышей значительное повышение уровня экспрессии *Per2*. Этот эффект устраняется специфическими антагонистами рецептора I типа ангиотензина II. Есть предположение, что ангиотензин II может быть одним из факторов, регулирующих биологические функции посредством изменения уровня экспрессии циркадных генов в аорте, почках и сердце. Колебания экспрессии часовых генов под влиянием ангиотензина II могут быть ответом на изменения средовых факторов и в свою очередь могут привести к патологическим процессам в сосудах, лежащим в основе сердечно-сосудистых расстройств [Nonaka et al., 2001].

Другие регуляторы циркадной экспрессии в гладкой мускулатуре сосудов, сердце и аорте – ретиноевая кислота и глюкокортикоиды. Например, ретиноевая кислота влияет на экспрессию генов, регулируемую комплексами CLOCK:BMAL1 и NPAS2:BMAL1. К таким генам относится ген транскрипционного фактора DBP, который участвует в регуляции сосудистого тонуса, однако механизм регуляции до сих пор точно не выяснен [Hastings et al., 2003].

Показано, что *in vivo* эндотелий участвует в поддержании циркадной периодичности эндотелий-зависимой дилатации артериальной стенки [Gaenger et al., 2000] и вазодилатации в коже [Elherik et al., 2002], которые также показывают пик в утренние часы. Известно, что в регуляции сосудистого тонуса участвуют эндотелины, которые являются сильными вазоконстрикторами [Elherik et al., 2002], в культуре фибробластов эндотелин-1 индуцирует экспрессию генов *Per* [Yagita et al., 2001]. На мышах показано, что мутация в гене *Per2* приводит к нарушению эндотелий-зависимой вазодилатации из-за снижения синтеза оксида азота [Viswambharan et al., 2007]. Таким образом, молекулярные часы могут влиять на временные особенности сердечно-сосудистых событий не только посредством регулирования ве-

личины утреннего повышения артериального давления, но также и степени прессорного ответа на воздействие окружающей среды, непосредственно обусловленного временем суток.

Большинство результатов, указывающих на роль циркадных ритмов в изменении кровяного давления, получено в исследованиях на грызунах. До сих пор до конца не ясно, каким образом циркадные ритмы участвуют в регуляции кровяного давления у человека. Данные литературы противоречивы. У людей в условиях 26-часового освещения наблюдается циркадный ритм частоты сердечных сокращений, в то время как циркадный ритм кровяного давления не показан [Kerkhof et al., 1998]. В другом исследовании продемонстрирован вклад циркадных ритмов в суточное изменение кровяного давления. Показано, что циркадная система модулирует активность симпатической нервной системы, уровень кортизола, артериальное давление, частоту сердечных сокращений и агрегацию тромбоцитов [Scheer et al., 2010]. Кроме того, обнаружено, что десинхронизация, вызванная 28-часовыми интервалами освещения, вызывает гипертензию [Scheer et al., 2009].

Другой возможный механизм развития сердечно-сосудистых патологий, связанный с циркадными ритмами, – нарушение баланса между важными метаболическими процессами, такими как процессы потребления и запасания кислорода, и процессами коагуляции и фибринолиза. Этот баланс поддерживается регуляцией циркадной периодичности активности вегетативной нервной системы, сосудистого тонуса и процессов коагуляции и фибринолиза, и нарушение данной регуляции лежит в основе развития инфаркта миокарда в утренние часы. Инфаркт миокарда чаще всего происходит ранним утром. Множество функций сердечно-сосудистой системы, связанных с патогенезом инфаркта миокарда, изменяются в соответствии с циркадными ритмами. Соответствие времени развития инфарктов миокарда циркадному ритму связано с суточными изменениями активности вегетативной нервной системы. Ранним утром повышаются систолическое артериальное давление, частота сердечных сокращений, приводя к увеличению потребления кислорода сердцем. С другой стороны, растёт сосудистый тонус коронарной артерии, и кровоток в ней уменьшается. Это несоответствие потребления и запасания кислорода приводит к развитию инфаркта миокарда. О роли вегетативной нервной системы свидетельствует то, что развитие инфаркта миокарда в соответствии с циркадным ритмом не выявлено у паци-

ентов, принимающих β -блокаторы, и у диабетиков с дисфункцией вегетативной нервной системы [Willich et al., 1989].

Кроме того, гиперкоагуляция в утренние часы также может лежать в основе развития инфарктов миокарда в это время суток. На мышах проводилась тромботическая окклюзия сосудов посредством фотохимического повреждения, *in vivo* была показана суточная периодичность процесса тромбогенеза [Westgate et al., 2008]. Известно, что количество циркулирующих тромбоцитов и их активность изменяются по циркадному типу [Undar et al., 1999], пик тромбообразования приходится на утренние часы [Kurnik, 1996]. Тромбоциты активируются катехоламинами, ритмическая активация вегетативной нервной системы также может индуцировать колебания в их активности. Помимо этого, циркадную периодичность имеет коагуляционная активность. Так, содержание в плазме фактора свертывания VII колеблется в течение суток. Как известно, повышение его концентрации в крови является фактором риска развития ишемической болезни сердца [Manfredini et al., 2005]. Другие факторы коагуляции, такие как фибриноген, протромбин, тромбомодулин, фактор VIII, также подвержены циркадной активации [Pinotti et al., 2005]. Например, экспрессия тромбомодулина в эндотелии сосудов изменяется периодически по циркадному типу. Регулирует этот процесс гетеродимер CLOCK:BMAL2, который связывается с E-box последовательностями промотора тромбомодулина и активирует его транскрипцию. Уровень мРНК и белка тромбомодулина имеют четкую циркадную периодичность в легких и сердце мышей, пик приходится на ночное время [Takeda et al., 2007]. Тромбомодулин ингибирует функционирование тромбина и реактивного белка C, защищая эндотелий от гиперкоагуляции, которая индуцируется PAI-1 [Van de Wouwer et al., 2004].

Коагуляционный процесс может быть нарушен активацией фибринолитического процесса, который ослабляет коагуляцию и препятствует формированию тромбов. Однако фибринолитическая функция ослаблена в утренние часы. PAI-1 является основным антагонистом тканевого активатора плазминогена и первичным регулятором фибринолитического каскада, его активность и концентрация мРНК показывают циркадное изменение с пиком в утренние часы [Hoekstra et al., 2002] в соответствии с повышенным риском инфаркта миокарда в это время [Cohen et al., 1997]. Предполагается, что это связано с основным молекулярным часовым механизмом. Например, такие компоненты цир-

кадной системы, как димер CLOCK:BMAL1 [Schoenhard et al., 2003] и PERIOD2 [Oishi et al., 2009], участвуют в регуляции циркадных колебаний экспрессии гена *PAI-1* в сердечно-сосудистых тканях. Известно, что ритмичность экспрессии гена *PAI-1* ослаблена в сердце мышей, мутантных по гену *Clock* [Minami et al., 2002]. Концентрация и активность PAI-1 изменяются в соответствии с циркадной периодичностью, и пик приходится на утренние часы, что приводит к понижению активности тканевого активатора плазминогена в это время суток. Следовательно, эффективность терапии с применением тканевого активатора плазминогена у пациентов, перенесших инфаркт миокарда, зависит от времени суток [Kurnik, 1996].

Таким образом, нарушение баланса между важными метаболическими процессами, такими как процессы потребления и запасаения кислорода и процессы коагуляции и фибринолиза, лежит в основе развития инфаркта миокарда в утренние часы.

Полиморфизм циркадных генов и риск развития сердечно-сосудистых заболеваний

В последнее десятилетие циркадные гены стали рассматриваться в качестве генов-кандидатов, которые могут вносить вклад в сердечно-сосудистые патологии. Однако популяционные исследования, касающиеся изучения роли однонуклеотидных замен в генах циркадных ритмов в развитии ССЗ, малочисленны. Так, показана ассоциация с развитием гипертензии одной из мутаций гена *NPAS2* в финской популяции [Englund et al., 2009]. Другими авторами обнаружена ассоциация мутации в интроне гена *BMAL1* с развитием артериальной гипертензии у жителей Великобритании [Woon et al., 2007]. Проведено исследование распределения частот аллелей и генотипов по полиморфным маркерам генов *CLOCK* и *BMAL1* в российской популяции (у жителей Республики Карелия) и установлена связь между полиморфными маркерами 3111TC (3'-нетранслируемой области), 862TC (экзона 9) и 257TG (промоторной области) гена *CLOCK* и развитием эссенциальной артериальной гипертензии (ЭАГ) (I-II стадии, степень АГ 1-2) и ишемической болезни сердца (ИБС) (острого инфаркта миокарда (ОИМ)). Повышение риска развития ЭАГ и ИБС характерно для мужчин, имеющих генотип CC по маркерам 3111TC, 862TC и генотип GG по маркеру 257TG гена *CLOCK*; и для женщин, имеющих генотип CC по маркеру 862TC и генотип GG по маркеру 257TG гена *CLOCK* [Курбатова и др., 2012б].

Нужно отметить, что результаты по оценке связи определенных вариантов генов циркадных ритмов с развитием ССЗ противоречивы. Так, ассоциация однонуклеотидной замены 56445TC в интроне гена *BMAL1* с развитием артериальной гипертензии, обнаруженная в популяции жителей Великобритании [Woon et al., 2007], не была зафиксирована у жителей России (Республики Карелия) [Курбатова, 2013]. Как известно, значительную роль в реализации генетических составляющих при возникновении и развитии полигенных заболеваний могут играть социальные, экономические, экологические факторы, во многом зависящие от региона проживания, и этническая принадлежность. Поэтому для населения определенных регионов удается обнаружить ассоциацию вариантов генов-кандидатов с развитием ССЗ, а для других – нет.

Наличие в геноме определенных вариантов генов может обуславливать восприимчивость или устойчивость к болезни (что называется «генетической предрасположенностью») и определять тяжесть или прогрессирование заболевания. Особенно это важно в случае мультифакториальных, в частности сердечно-сосудистых, заболеваний. В связи с этим особую важность имеют исследования по изучению роли полиморфизма генов циркадного ритма в этиологии и патогенезе ССЗ.

Одним из молекулярных механизмов влияния полиморфных вариантов циркадных генов на развитие ССЗ является изменение транскрипционной активности генов, обусловленное наличием однонуклеотидных замен в регуляторных областях. Например, в настоящее время показано значимое снижение экспрессии основных циркадных генов *CLOCK*, *BMAL1* и *PER1* у носителей генотипов повышенного риска развития ЭАГ и ИБС по полиморфным маркерам 3111TC и 257TG регуляторных областей гена *CLOCK* [Курбатова и др., 2012а]. Снижение экспрессии основных циркадных генов может приводить к нарушению механизмов регуляции системы циркадных генов, что в свою очередь способно повлиять на экспрессию генов-мишеней. Так, доказано, что наличие однонуклеотидных замен в гене *CLOCK* может приводить к изменению уровней транскриптов не только самих циркадных генов, но и генов-мишеней, например, гена *PAI-1* [Курбатова и др., 2013а]. По данным литературы, вероятные механизмы вовлечения в патогенез ССЗ однонуклеотидных замен в циркадных генах включают не только изменение уровней транскриптов циркадных генов (изменения

на транскрипционном уровне), но и влияние структурных изменений в нетранслируемых областях гена на связывание с регуляторными молекулами [Dong et al., 2011; Wang et al., 2011], стабильность и локализацию мРНК (изменения на посттранскрипционном уровне) [Mignone et al., 2002; Woo et al., 2009].

Кроме данных по изучению молекулярно-генетических механизмов влияния однонуклеотидных замен в генах циркадного ритма на развитие ССЗ в литературе представлены также результаты ряда исследований, касающихся изучения биохимических механизмов этой взаимосвязи. Однако следует отметить, что в большинстве работ по изучению биохимических механизмов связи вариантов циркадных генов с развитием полигенных, в частности сердечно-сосудистых, заболеваний рассматриваются отдельные биохимические показатели [Tsuzaki et al., 2010]. Кроме того, в основном эти работы выполнены зарубежными авторами с привлечением модельных объектов с мутантными, нокаутированными или делетированными генами [Anea et al., 2009; Doi et al., 2010; Somanath et al., 2011]. При рассмотрении в качестве объекта исследования человека задача по изучению биохимических механизмов связи вариантов циркадных генов с фенотипом (развитием заболевания) реализуется исследователями с помощью оценки ассоциации определенных вариантов гена с тем или иным биохимическим показателем. Например, при исследовании жителей Финляндии было выявлено, что однонуклеотидный полиморфизм в гене *PER2* ассоциируется с изменениями концентрации глюкозы в плазме, причем у носителей минорного аллеля снижен риск повышения содержания глюкозы в крови. В то же время различий в содержании в плазме крови холестерина липопротеинов низкой плотности у носителей разных генотипов по данному полиморфному маркеру не обнаружено [Englund et al., 2009]. В японской популяции человека была обнаружена связь однонуклеотидной замены 3111TC гена *CLOCK* с содержанием липопротеинов низкой плотности [Tsuzaki et al., 2010].

Кроме того, впервые было проведено исследование комплекса биохимических показателей плазмы крови носителей разных генотипов по полиморфным маркерам генов *CLOCK* и *BMAL1*, страдающих ЭАГ (I-II стадии, степень АГ 1-2), и людей без клинических проявлений данного заболевания. Были проанализированы такие биохимические показатели, как: уровень мелатонина, АКТГ, кортизола, альдостерона, АПФ, тестостерона, PAI-1 и липидов в плазме крови. Показано, что в зависимости от геноти-

па по маркерам, ассоциированным с риском развития ЭАГ и ИБС, различаются уровни гормонов (мелатонина, АКТГ, тестостерона), содержание в крови одного из важнейших регуляторов фибринолиза (PAI-1) и уровни атерогенных и антиатерогенных фракций липидов [Курбатова и др., 2012в; Курбатова, 2013].

Обобщая данные литературы, следует подчеркнуть важность исследования роли вариантов циркадных генов в этиологии и патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний. Поиск новых полиморфных маркеров циркадных генов, перспективных в отношении их использования для оценки предрасположенности к ССЗ, а также изучение молекулярно-генетических и биохимических механизмов влияния полиморфных вариантов на развитие данных заболеваний чрезвычайно важны для разработки основ профилактической медицины.

Заключение

Таким образом, на основании данных литературы можно сделать вывод о том, что механизмы, посредством которых циркадные гены могут вносить вклад в развитие сердечно-сосудистых патологий, сложны и разнообразны. При этом можно выделить следующие основные механизмы. В условиях сократительной дисфункции нарушение в функционировании системы циркадных генов сердца и, как следствие, изменение циркадных ритмов генов-мишеней приводит к изменениям в окислительном метаболизме. Другой возможный механизм предполагает влияние системы циркадных генов и их продуктов на ритм кровяного давления. Установлено, что циркадная система модулирует активность симпатической нервной системы, уровень кортизола и других гуморальных факторов, а также активность ферментов, участвующих в регуляции артериального давления. Предположение о другом возможном механизме опирается на сведения о связи между активностью вегетативной нервной системы, сосудистым тонусом и циркадной периодичностью кровяного давления. Циркадная система посредством генов-мишеней регулирует периодичность активности вегетативной нервной системы, сосудистого тонуса, тромболитической активности, и нарушение данной регуляции может приводить к дисбалансу между важными метаболическими процессами, такими как процессы потребления и запасания кислорода и процессы коагуляции и фибринолиза.

Раскрыты некоторые механизмы, посредством которых однонуклеотидные замены в циркадных генах вносят вклад в развитие сер-

дечно-сосудистых заболеваний. Мутации в генах циркадного ритма могут привести к изменениям на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях, а также обуславливать изменение уровней некоторых биохимических показателей плазмы крови, в частности уровней гормонов, регуляторов фибринолиза и уровни атерогенных и антиатерогенных фракций липидов.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009–2013 гг.», № г. р. 01201056445, ГК № 02.740.11.0700; программы Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине»; гранта Президента РФ «Ведущие научные школы РАН» НШ-3731.2010.4; гранта Правительства РФ по постановлению № 220 (вед. ученый А. Н. Полторак); гранта Российского фонда фундаментальных исследований 12-04-31368 мол_а.

Литература

- Курбатова И. В. Роль вариантов генов циркадных ритмов *CLOCK* и *BMAL1* в изменении биохимических показателей при развитии эссенциальной артериальной гипертензии и ишемической болезни сердца: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Петрозаводск, 2013. 24 с.
- Курбатова И. В., Коломейчук С. Н., Топчиева Л. В. и др. Экспрессия генов циркадных ритмов *CLOCK*, *BMAL1* и *PER1* в клетках буккального эпителия человека в зависимости от полиморфных вариантов гена *CLOCK* // Доклады академии наук. 2012а. Т. 446, № 6. С. 703–706.
- Курбатова И. В., Топчиева Л. В., Коломейчук С. Н. и др. Полиморфные маркеры гена транскрипционного фактора *CLOCK* и риск возникновения эссенциальной артериальной гипертензии и ишемической болезни сердца у жителей Республики Карелия // Актуальные проблемы лабораторной диагностики и биотехнологии: сб. тез. Всерос. науч.-практ. конф. (Кемерово, 13–14 сентября 2012 г.). Кемерово, 2012б. С. 51–52.
- Курбатова И. В., Топчиева Л. В., Коломейчук С. Н. и др. 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. 2012в. Т. 12, № 4. С. 29–31.
- Курбатова И. В., Топчиева Л. В., Корнева В. А. и др. Содержание PAI-1 в плазме крови и уровень транскриптов гена *PAI-1* в клетках буккального эпителия доноров контрольной группы и пациентов с диагнозом ЭАГ в зависимости от полиморфных вариантов генов *CLOCK* и *BMAL1* // Медицина в XXI веке: традиции и перспективы: Сб. трудов II Межд. интернет-конф. (Казань, 19–20 апреля 2013 г.). Казань, 2013а. С. 9–16.
- Курбатова И. В., Топчиева Л. В., Корнева В. А. и др. Экспрессия генов циркадного ритма *CLOCK*, *BMAL1* и *PER1* в клетках буккального эпителия у больных эссенциальной артериальной гипертензией // Медицинская генетика. 2013б. № 4. С. 27–31.
- Adreotti F., Kluff C. Circadian variation of fibrinolytic activity in blood // Chronobiol. Int. 1991. Vol. 8, N 5. P. 336–351.
- Akhtar R. A., Reddy A. B., Maywood E. S. et al. Circadian cycling of the mouse liver transcriptome, as revealed by cDNA microarray, is driven by the suprachiasmatic nucleus // Curr. Biol. 2002. Vol. 12, N 7. P. 540–550.
- Allard M. F., Schonekess B. O., Henning S. L. et al. Contribution of oxidative metabolism and glycolysis to ATP production in hypertrophied hearts // Am. J. Physiol. 1994. Vol. 267, N 2. Part 2. P. 742–750.
- Andrews N. P., Gralnick H. R., Merryman P. et al. Mechanisms underlying the morning increase in platelet aggregation: a flow cytometry study // J. Am. Coll. Cardiol. 1996. Vol. 28, N 7. P. 1789–1795.
- Anea C. B., Zhang M., Stepp D. W. et al. Vascular disease in mice with a dysfunctional circadian clock // Circulation. 2009. Vol. 119, N 11. P. 1510–1517.
- Backs J., Olson E. N. Control of cardiac growth by histone acetylation/deacetylation // Circ. Res. 2006. Vol. 98, N 1. P. 215–224.
- Bray M. S., Shaw C. A., Moore M. W. et al. Disruption of the circadian clock within the cardiomyocyte influences myocardial contractile function, metabolism, and gene // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2008. Vol. 294, N 2. P. 1036–1047.
- Camacho F., Cilio M., Guo Y. et al. Human casein kinase I delta phosphorylation of human circadian clock proteins period 1 and 2 // FEBS Lett. 2001. Vol. 489, N 2–3. P. 159–165.
- Casetta I., Granieri E., Portaluppi F. et al. Circadian variability in hemorrhagic stroke // J. Am. Med. Assoc. 2002. Vol. 287, N 10. P. 1266–1267.
- Chu L. W., Zhu Y., Yu K. et al. Variants in circadian genes and prostate cancer risk: a population-based study in China // Prostate Cancer Prostatic Dis. 2008. Vol. 11, N 4. P. 342–348.
- Claustrat B., Brun J., Chazot G. The basic physiology and pathophysiology of melatonin // Sleep Med. Rev. 2005. Vol. 9, N 1. P. 11–24.
- Cohen M. C., Rohtla K. M., Lavery C. E. et al. Meta-analysis of the morning excess of acute myocardial infarction and sudden cardiac death // Am. J. Cardiol. 1997. Vol. 79, N 11. P. 1512–1516.
- Couch R. D. Travel, time zones, and sudden cardiac death. Empiric pathology // Am. J. Forensic. Med. Pathol. 1990. Vol. 11, N 2. P. 106–111.
- Curtis A. M., Cheng Y., Kapoor S. et al. Circadian variation of blood pressure and the vascular response to asynchronous stress // PNAS. 2007. Vol. 104, N 9. P. 3450–3455.
- Dickmeis T. Glucocorticoids and the circadian clock // J. Endocrinol. 2009. Vol. 200, N 1. P. 3–22.
- Doi M., Hirayama J., Sassone-Corsi P. Circadian regulator *CLOCK* is a histone acetyltransferase // Cell. 2006. Vol. 125, N 3. P. 497–508.

- Doi M., Takahashi Y., Komatsu R. et al. Salt-sensitive hypertension in circadian clock-deficient *Cry*-null mice involves dysregulated adrenal Hsd3b6 // *Nat. Med.* 2010. Vol. 16, N 1. P. 67–74.
- Dong L., Bilbao A., Laucht M. et al. Effects of the circadian rhythm gene *Period 1 (Per1)* on psychosocial stress-induced alcohol drinking // *Am. J. Psychiatry.* 2011. Vol. 168, N 10. P. 1090–1098.
- Dunlap J. C. Molecular bases for circadian clocks // *Cell.* 1999. Vol. 96, N 2. P. 271–290.
- Durgan D. J., Moore M. W., Ha N. P. et al. Circadian rhythms in myocardial metabolism and contractile function: influence of workload and oleate // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2007. Vol. 293, N 4. P. 2385–2393.
- Durgan D. J., Trexler N. A., Egbejimi O. et al. The circadian clock within the cardiomyocyte is essential for responsiveness of the heart to fatty acids // *J. Biol. Chem.* 2006. Vol. 281, N 34. P. 24254–24269.
- Eide E. J., Vielhaber E. L., Hinz W. A. et al. The Circadian regulatory proteins BMAL1 and Cryptochromes are substrates of casein kinase I // *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277, N 19. P. 17248–17254.
- Eide E. J., Woolf M. F., Kang H. et al. Control of mammalian circadian rhythm by CKI-regulated proteasome-mediated PER2 degradation // *Mol. Cell Biol.* 2005. Vol. 25, N 7. P. 2795–2807.
- Elherik K., Khan F., McLaren M. et al. Circadian variation in vascular tone and endothelial cell function in normal males // *Clin. Sci. (Lond.)*. 2002. Vol. 102, N 5. P. 547–552.
- Englund A., Kovanen L., Saarikoski S. T. et al. *NPAS2* and *PER2* are linked to risk factors of the metabolic syndrome // *J. Circadian Rhythms.* 2009. Vol. 7, N 5. P. 1–9.
- Etchegaray J. P., Lee C., Wade P. A. et al. Rhythmic histone acetylation underlies transcription in the mammalian circadian clock // *Nature.* 2003. Vol. 421, N 6919. P. 177–182.
- Fujino Y., Iso H., Tamakoshi A. et al. Prospective cohort study of shift work and risk of ischemic heart disease in Japanese male workers // *Am. J. Epidemiol.* 2006. Vol. 164, N 2. P. 128–135.
- Gachon F., Nagoshi E., Brown S. A. et al. The mammalian circadian timing system: from gene expression to physiology // *Chromosoma.* 2004. Vol. 113, N 3. P. 103–112.
- Gaenger H., Sturm W., Kirchmair R. et al. Circadian variation of endothelium-dependent vasodilatation of the brachial artery as a confounding factor in the evaluation of endothelial function // *Atherosclerosis.* 2000. Vol. 149, N 1. P. 227–228.
- Goldberg R. J., Brady P., Muller J. E. et al. Time of onset of symptoms of acute myocardial infarction // *Am. J. Cardiol.* 1990. Vol. 66, N 2. P. 140–144.
- Gumz M. L., Stow L. R., Lynch I. J. et al. The circadian clock protein *Period 1* regulates expression of the renal epithelial sodium channel in mice // *J. Clin. Invest.* 2009. Vol. 119, N 8. P. 2423–2434.
- Guney H. Z., Uluoglu C., Hodoglugil U. et al. Biological-time-dependent differences in effect of verapamil on rat aorta and influence of endothelium // *Chronobiol. Int.* 1999. Vol. 16, N 6. P. 779–787.
- Halberg F., Reinberg A. Rythmes circadian a rythmes de basses frequences en physiologie humaine // *J. Physiol. (Paris)*. 1967. Vol. 59. P. 117–200.
- Hastings M. H., Reddy A. B., Maywood E. S. A clockwork web: circadian timing in brain and periphery, in health and disease // *Nature Rev. Neurosci.* 2003. Vol. 4, N 8. P. 649–661.
- Hoekstra T., Geleijnse J. M., Schouten E. G. et al. Diurnal variation in PAI-1 activity predominantly confined to the 4G-allele of the *PAI-1* gene // *Thromb. Haemost.* 2002. Vol. 88, N 5. P. 794–798.
- Honma S., Kawamoto T., Takagi Y. et al. *DEC1* and *DEC2* are regulators of the mammalian molecular clock // *Nature.* 2002. Vol. 419, N 6909. P. 841–844.
- Kerkhof G. A., Van Dongen H. P., Bobbert A. C. Absence of endogenous circadian rhythmicity in blood pressure? // *Am. J. Hypertens.* 1998. Vol. 11, N 3. Pt. 1. P. 373–377.
- Kung T. A., Egbejimi O., Cui J. et al. Rapid attenuation of circadian clock gene oscillations in the rat heart following ischemia-reperfusion // *J. Mol. Cell Cardiol.* 2007. Vol. 43, N 2. P. 744–753.
- Kunieda T., Minamino T., Katsuno T. et al. Cellular senescence impairs circadian expression of clock genes *in vitro* and *in vivo* // *Circ. Res.* 2006. Vol. 98, N 4. P. 532–539.
- Kurnik P. B. Practical implications of circadian variations in thrombolytic and antithrombotic activities // *Cardiol. Clin.* 1996. Vol. 14, N 2. P. 251–262.
- Lefta M., Campbell K. S., Feng H. Z. et al. Development of dilated cardiomyopathy in *Bmal1*-deficient mice // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2012. Vol. 303, N 4. H475–485.
- Leibetseder V., Humpeler S., Svoboda M. et al. Clock genes display rhythmic expression in human hearts // *Chronobiol. Int.* 2009. Vol. 26, N 4. P. 621–636.
- Lemmer B. Chronopharmacology of hypertension // *Ann. NY Acad. Sci.* 1996. Vol. 783. P. 242–253.
- Maemura K., Takeda N., Nagai R. Circadian rhythms in the CNS and peripheral clock disorders: role of the biological clock in cardiovascular diseases // *J. Pharmacol. Sci.* 2007. Vol. 103, N 2. P. 134–138.
- Manfredini R., Boari B., Smolensky M. H. et al. Circadian variation in stroke onset: identical temporal pattern in ischemic and hemorrhagic events // *Chronobiol. Int.* 2005. Vol. 22, N 3. P. 417–453.
- Marcheva B., Ramsey K. M., Buhr E. D. et al. Disruption of the clock components *CLOCK* and *BMAL1* leads to hypoinsulinaemia and diabetes // *Nature.* 2010. Vol. 466, N 7306. P. 627–631.
- Martino T. A., Tata N., Belsham D. D. et al. Disturbed diurnal rhythm alters gene expression and exacerbates cardiovascular disease with rescue by resynchronization // *Hypertension.* 2007. Vol. 49, N 5. P. 1104–1113.
- Maruo T., Nakatani S., Kanzaki H. et al. Circadian variation of endothelial function in idiopathic dilated cardiomyopathy // *Am. J. Cardiol.* 2006. Vol. 97, N 5. P. 699–702.
- McNamara P., Seo S. B., Rudic R. D. et al. Regulation of *CLOCK* and *MOP4* by nuclear hormone receptors in the vasculature: a humoral mechanism to reset a peripheral clock // *Cell.* 2001. Vol. 105, N 7. P. 877–889.

- Mignone F., Gissi C., Liuni S. et al. Untranslated regions of mRNAs // *Genome Biol.* 2002. Vol. 3, N 3, reviews 0004. P. 1–10.
- Minami Y., Horikawa K., Akiyama M. et al. Restricted feeding induces daily expression of clock genes and *Pa1-1* mRNA in the heart of *Clock* mutant mice // *FEBS Lett.* 2002. Vol. 526, N 1–3. P. 115–118.
- Naito Y., Tsujino T., Fujioka Y. et al. Augmented diurnal variations of the cardiac rennin-angiotensin system in hypertensive rats // *Hypertension.* 2002. Vol. 40, N 6. P. 827–833.
- Nonaka H., Emoto N., Ikeda K. et al. Angiotensin II induces circadian gene expression of clock genes in cultured vascular smooth muscle cells // *Circulation.* 2001. Vol. 104, N15. P. 1746–1748.
- O'Neill J. S., Reddy A. B. Circadian clocks in human red blood cells // *Nature.* 2011. Vol. 469, N 7331. P. 498–503.
- Oishi K., Miyazaki K., Kadota K. et al. Genome-wide expression analysis of mouse liver reveals CLOCK-regulated circadian output genes // *J. Biol. Chem.* 2003. Vol. 278, N 42. P. 41519–41527.
- Oishi K., Miyazaki K., Uchida D. et al. PERIOD2 is a circadian negative regulator of *PAI-1* gene expression in mice // *J. Mol. Cell Cardiol.* 2009. Vol. 46, N 4. P. 545–552.
- Onaka H., Hirota Y., Shimada S. et al. Circadian variation of myocardial ischemia in patients with unstable angina pectoris secondary to fixed and/or spastic coronary narrowing // *Am. J. Cardiol.* 1998. Vol. 81, N 5. P. 629–632.
- Otto M. E., Svatikova A., Barretto R. B. et al. Early morning attenuation of endothelial function in healthy humans // *Circulation.* 2004. Vol. 109, N 21. P. 2507–2510.
- Panda S., Antoch M. P., Miller B. H. et al. Coordinated transcription of key pathways in the mouse by the circadian clock // *Cell.* 2002. Vol. 109, N 3. P. 307–320.
- Pinotti M., Bertolucci C., Portaluppi F. et al. Daily and circadian rhythms of tissue factor pathway inhibitor and factor VII activity // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005. Vol. 25, N 3. P. 646–649.
- Qi L., Boateng S. Y. The circadian protein Clock localizes to the sarcomeric Z-disk and is a sensor of myo lament cross-bridge activity in cardiac myocytes // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006. Vol. 351, N 4. P. 1054–1059.
- Rajaratnam S. M., Arendt J. Health in a 24-h society // *Lancet.* 2001. Vol. 358, N 9286. P. 999–1005.
- Reppert S. M., Weaver D. R. Coordination of circadian timing in mammals // *Nature.* 2002. Vol. 418, N 6901. P. 935–941.
- Ricci S., Celani M. G., Vitali R. et al. Diurnal and seasonal variations in the occurrence of stroke: a community-based study // *Neuroepidemiology.* 1992. Vol. 11, N 2. P. 59–64.
- Rocco M. B., Nabel E. G., Selwyn A. P. Circadian rhythms and coronary artery disease // *Am. J. Cardiol.* 1987. Vol. 59, N 7. P. 13–17.
- Rudic R. D., McNamara P., Reilly D. et al. Bioinformatic analysis of circadian gene oscillation in mouse aorta // *Circulation.* 2005. Vol. 112, N 17. P. 2716–2724.
- Saifur R. M., Emoto N., Nonaka H. et al. Circadian clock genes directly regulate expression of the Na⁺/H⁺ exchanger NHE3 in the kidney // *Kidney Int.* 2005. Vol. 67, N 4. P. 1410–1419.
- Scheer F. A., Hilton M. F., Mantzoros C. S. et al. Adverse metabolic and cardiovascular consequences of circadian misalignment // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009. Vol. 106, N 11. P. 4453–4458.
- Scheer F. A., Hu K., Evoniuk H. et al. Impact of the human circadian system, exercise, and their interaction on cardiovascular function // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. Vol. 107, N 47. P. 20541–20546.
- Schoenhard J. A., Smith L. H., Painter C. A. et al. Regulation of the *PAI-1* promoter by circadian clock components: differential activation by BMAL1 and BMAL2 // *J. Mol. Cell Cardiol.* 2003. Vol. 35, N 5. P. 473–481.
- Scott E. M., Carter A. M., Grant P. J. Association between polymorphisms in the *Clock* gene, obesity and the metabolic syndrome in man // *Int. J. Obes. (Lond.)* 2008. Vol. 32, N 4. P. 658–662.
- Somanath P. R., Podrez E. A., Chen J. et al. Deficiency in core circadian protein BMAL1 is associated with a prothrombotic and vascular phenotype // *J. Cell Physiol.* 2011. Vol. 226, N 1. P. 132–140.
- Storch K. F., Lipan O., Leykin I. et al. Extensive and divergent circadian gene expression in liver and heart // *Nature.* 2002. Vol. 417, N 6884. P. 78–83.
- Takahashi J. S., Hong H. K., Ko C. H. et al. The genetics of mammalian circadian order and disorder: implications for physiology and disease // *Nat. Rev. Genet.* 2008. Vol. 9, N 10. P. 764–775.
- Takeda N., Maemura K. Cardiovascular disease, chronopharmacotherapy, and the molecular clock // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2010. Vol. 62, N 9–10. P. 956–966.
- Takeda N., Maemura K. Circadian clock and cardiovascular disease // *J. Cardiol.* 2011. Vol. 57, N 3. P. 249–256.
- Takeda N., Maemura K., Horie S. et al. Thrombomodulin is a clock-controlled gene in vascular endothelial cells // *J. Biol. Chem.* 2007. Vol. 282, N 45. P. 32561–32567.
- Tsuzaki K., Kotani K., Sano Y. et al. The association of the *Clock* 3111 T/C SNP with lipids and lipoproteins including small dense low-density lipoprotein: results from the Mima study // *BMC Med. Genet.* 2010. Vol. 11, N 150.
- Ueberberg H., Laque K., Trieb G. Comparative studies on the circadian rhythm of corticosterone, lipid and cholesterol levels in adrenals and blood of rats // *Chronobiol. Int.* 1984. Vol. 1, N 1. P. 41–49.
- Undar L., Ertugrul C., Altunba H. et al. Circadian variations in natural coagulation inhibitors protein C, protein S and antithrombin in healthy men: a possible association with interleukin-6 // *Thromb. Haemost.* 1999. Vol. 81, N 4. P. 571–575.
- Van de Wouwer M., Collen D., Conway E. M. Thrombomodulin-protein C-EPCR system: integrated to regulate coagulation and inflammation / *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004. Vol. 24, N 8. P. 1374–1383.
- Viswambharan H., Carvas J. M., Antic V. et al. Mutation of the circadian clock gene *Per2* alters vascular endothelial function // *Circulation.* 2007. Vol. 115, N 16. P. 2188–2195.

Voinescu B. I. Clock genes, chronotypes and diseases // HVM Bioflux. 2009. Vol. 1, N 1. P. 19–35.

Von Schantz M. Phenotypic effects of genetic variability in human clock genes on circadian and sleep parameters // J. Genet. 2008. Vol. 87, N 5. P. 513–519.

Wang F., Hu Z., Yang R. et al. A variant affecting miRNAs binding in the circadian gene *Neuronal PAS domain protein 2 (NPAS2)* is not associated with breast cancer risk // Breast Cancer Res. Treat. 2011. Vol. 127, N 3. P. 769–775.

Wang N., Yang G., Jia Z. et al. Vascular PPAR controls circadian variation in blood pressure and heart rate through *Bmal1* // Cell Metab. 2008. Vol. 8, N 6. P. 482–491.

Westgate E. J., Cheng Y., Reilly D. F. et al. Genetic components of the circadian clock regulate thrombogenesis *in vivo* // Circulation. 2008. Vol. 117, N 16. P. 2087–2095.

White W. B., Sica D. A., Calhoun D. et al. Preventing increases in early-morning blood pressure, heart rate, and the rate-pressure product with controlled onset extended release verapamil at bedtime versus enalapril, losartan, and placebo on arising // Am. Heart J. 2002. Vol. 144, N 4. P. 657–665.

Willich S. N., Linderer T., Wegscheider K. et al. Increased morning incidence of myocardial infarction in the ISAM Study: absence with prior beta-adrenergic blockade. ISAM Study Group // Circulation. 1989. Vol. 80, N 4. P. 853–858.

Woo K. C., Kim T. D., Lee K. H. et al. Mouse *period 2* mRNA circadian oscillation is modulated by PTB-mediated rhythmic mRNA degradation // Nucleic Acids Res. 2009. Vol. 37, N 1. P. 26–37.

Woon P. Y., Kaisaki P. J., Braganca J. et al. Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like (BMAL1) is associated with susceptibility to hypertension and type 2 diabetes // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007. Vol. 104, N 36. P. 14412–14417.

Yagita K., Tamanini F., van Der Horst G. T. et al. Molecular mechanisms of the biological clock in cultured fibroblasts // Science. 2001. Vol. 292, N 5515. P. 278–281.

Yamashita T., Murakawa Y., Sezaki K. et al. Circadian variation of paroxysmal atrial fibrillation // Circulation. 1997. Vol. 96, N 5. P. 1537–1541.

Yamashita T., Sekiguchi A., Iwasaki Y. K. et al. Circadian variation of cardiac K^+ channel gene expression // Circulation. 2003. Vol. 107, N 14. P. 1917–1922.

Young M. E. Anticipating anticipation: pursuing identification of cardiomyocyte circadian clock function // J. Appl. Physiol. 2009. Vol. 107, N 4. P. 1339–1347.

Young M. E. Circadian rhythms in cardiac gene expression // Curr. Hypertens. Rep. 2003. Vol. 5, N 6. P. 445–453.

Young M. E. The circadian clock within the heart: potential influence on myocardial gene expression, metabolism, and function // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2006. Vol. 290, N 1. P. 1–16.

Young M. E., Razeghi P., Cedars A. M. et al. Intrinsic diurnal variations in cardiac metabolism and contractile function // Circ. Res. 2001a. Vol. 89, N 12. P. 1199–1208.

Young M. E., Razeghi P., Taegtmeier H. Clock genes in the heart: characterization and attenuation with hypertrophy // Circ. Res. 2001b. Vol. 88, N 11. P. 1142–1150.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Курбатова Ирина Валерьевна

младший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН,
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: irina7m@yandex.ru
тел.: (8142) 571879

Топчиева Людмила Владимировна

ведущий научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН,
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: topchieva@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 571879

Немова Нина Николаевна

директор, чл.-корр. РАН, д. б. н., проф.
Институт биологии Карельского научного центра РАН,
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: nemova@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 783615

Kurbatova, Irina

Institute of Biology, Karelian Research Center,
Russian Academy of Sciences,
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: irina7m@yandex.ru
tel.: (8142) 571879

Topchieva, Lyudmila

Institute of Biology, Karelian Research Center,
Russian Academy of Sciences,
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: topchieva@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 571879

Nemova, Nina

Institute of Biology, Karelian Research Center,
Russian Academy of Sciences,
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: nemova@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 783615