

A cirkadián kutatás története

The history of circadian research

Kálmán Eszter Éva mérnök

Semmelweis Egyetem, Molekuláris Biológiai Tanszék, mérnök

szteki97@gmail.com

Initially submitted Febr 15, 2022; accepted for publication March 8, 2022

Abstract

The research of biological rhythms dates back to the 1700s when a French scientist de Marian wrote about the movement of leaves of plants according to the period of the day. Based on these and similar observations, realized the researcher has a well-regulated circadian rhythm. Nowadays the term chronobiology refers to all research focusing on biological timing, including high-frequency cycles, and monthly or annual changes. Definition circadian goes back to the Latin term 'circa diem' which means about a day, indicating a 24-hour period. This study's topic concerns the circadian clock and the history of its research. It is also focusing on species, realized with circadian functions while demonstrating their similarities and differences. This way we show a comprehensive picture of circadian research and its development, which continues even recently in full progress.

kulcsszavak

cirkadián ritmus, történet, kutatás

keywords

circadian rithm, history, research

Bevezetés

A Földön élő minden élőlény életében jelentős hatása van a bolygónk forgásának, a Napszakok váltakozásának. Ezen események mögött megbújó fizikai és biológiai törvényszerűségek megértésére és feltérképezésére évezredek óta tesznek kísérletet az emberek. Néhány tárgyi maradvány, mint például a Stonehenge alapján kaphatunk egy képet a történelem előtti ember időtudatáról. Ennek ellenére az időről és főképp a ritmusokról való elképzeléseink eredetéről az írásos emlékek között érdemes keresnünk (1). Ma már ismert, hogy a Föld forgásának következményeként a nappal és éjszaka 24 órás periódusokban váltja egymást (2). Ezáltal a Föld forgása előre látható fény- és hőmérsékletváltozásokat is okoz természetes környezetünkben. Ennek megfelelően a bolygón élő élőlények fejlődése során, a természetes szelekció előnyben részesítette a cirkadián evolúciót, vagyis a biológiai órák vagy az idő követésére szolgáló endogén sejtmechanizmusok fejlődését. Ezek az órák túlélési előnyt biztosítanak azáltal, hogy lehetővé teszik a szervezet számára, hogy előre jelezze a napi környezeti változásokat, és így az élőlények viselkedését és fizioológiáját, a megfelelő napszakhoz igazítsa (3).

Az elmúlt évszázadok alatt a kutatók sikeresen kimutatták, hogy az élőlények nagy részében (növények, gombák, állatok) jelen van egy cirkadián óra, amely képes a környezet bizonyos paramétereinek napi ingadozásához igazítani a szervezet működését, ezáltal elősegíteni annak túlélését. Számos faj esetében sikerült azonosítani egy központi, cirkadián oszcillációt irányító rendszert vagy diszkrét régiókat. Ilyenre példa az emlősök esetében a Hipotalamuszban lévő Suprachiasmaticus mag (SCN), a tengeri puhatestűek

esetén a retina, a tücskök, csótányok és *Drosophila* esetén pedig az optikai lebeny. Vannak fajok, amelyekben bár leírtak cirkadián aktivitást a sejtekben, azonban központi irányító szervet vagy régiót nem azonosítottak, mint például a zebrahal esetében (2).

A cirkadián ritmusok molekuláris mechanizmusainak jobb megértése által, az emberi szervezetnek a napszakok váltakozásához való alkalmazkodásáról is bővebb információkat kaphattunk. Az orvosok és kutatók ezáltal fontos megfigyeléseket tehettek az alvás-ébrenlét fázisok, az éjszakai műszakban dolgozók alvási ciklusai, sőt még az űrhajósok alvási mechanizmusa tekintetében is. Többek között az is régóta ismertté vált, hogy a cirkadián óra zavarai, komoly hatással lehetnek az emberi szervezet fiziológiai működésére, ideértve a hormonális zavarokat, idegrendszeret érintő rendellenességeket vagy a tumorok kialakulását. Ezen említett főbb témakörök alapján, tekintsük meg a cirkadián kutatás történetét, a teljesség igénye nélkül.

A cirkadián óra felfedezésének főbb lépései

Ahogy a bevezetőben már említésre került a Föld forgása a saját tengelye körül drámai, napi változásokat idéz elő a környezetben, ami számos következménnyel jár az élőlényekre nézve. A cirkadián órák, amelyek időlegesen a biológia számos aspektusát szervezik, megtalálhatók az élőlények 3 fő országában: Archaeában, Baktériumban és Eukariában egyaránt. Az első feljegyzett megfigyelés a napi ritmusról Thasos Androstenestől származott, aki leírta a növények (valószínűleg a tamarindfa) leveleinek alvási mozgását Nagy Sándor expedíciói során az ie IV. században (4). A biológus-csillagász Jean Jacques d'Ortous de Mairan (1678-1771) francia csillagász 1729-ben a mimóza növény leveleinek mozgását vizsgálta úgy, hogy sötét helyiségbe tette és megfigyelte, hogy a növény reggelente tovább bontogatja a leveleit majd bezárja őket este (5). De Marian ezen vizsgálódását nevezhetjük az első *kronobiológiai* kísérletnek. Később ezen megfigyeléseit több botanikus is kétségbe vonta, de Charles Darwin (1809-1882) kísérletei alapján végül elfogadták (1).

Kétszáz évvel később, az 1930-as években Erwin Bunning (1906-1990) német biológus megállapította, hogy a babnövény levélmozgásának periódusa állandó fényviszonyok között 24,4 óra, és nem 24 óra, és hogy a tulajdonság örökölhető, így megállapította, hogy a növény fotoperiodizmust egy endogén óra szabályozza, amely külső ingerekkel szinkronizálható (5). Az első filozófus, aki mechanisztikus módon figyelte meg az állatokat és az embert az René Descartes (1569-1650) akinek idejében a legkifinomultabb készülékek még a mechanikus órák voltak. Mindezek alapján születhetett meg a *kronobiológia* fogalma, amely magába foglal minden olyan kutatást, ami a biológiai ritmusok és a környezet periódikusságának összefüggésével foglalkozik különböző organizmusokban beleértve az embert (1).

A biológiai óra jelentőségére már hamar rájöttek az emberek. Egy nagyon egyszerű példa a cirkadián óra fontosságára, hogy ha egy éjszakai rágcsáló megpróbálna előjönni a rejtekéből a felszínre nappali fényben, akkor könnyű prédává, válna a ragadozók számára. Ehhez hasonlóan az emberi szervezet belső szinkronjának felborulása, számos egészségügyi problémához vezethet. Ilyen probléma jelentkezhet az időzóna gyors váltásában un. *jet lag*-ben szenvedők vagy az éjszakai műszakban dolgozók esetén ahol alváshiány áll fenn. Az alváskutatás, amely a *kronobiológia* körébe sorolható, némileg elkülönülve fejlődött az évek során, kezdve a különböző alvási fázisok azonosításával a 2000-es években (6).

Az egyik első jelentés, amely több cirkadián oszcillátor jelenlétére utalt, az 1950-es évek végén Colin Pittendrigh (1916-1996) és munkatársai dolgozták ki. A *Drosophila pseudoobscura* modellrendszert alkalmazták a legyek populációiban a lárvák kikelési ritmusának tanulmányozására. A 12:12-es világosság–

sötét ciklusban a *Drosophila* kikelés körülbelül 3 órával a világítás felkapcsolása után következnek be. A ritmikusság kezdete után a kikelés állandó sötétségben ritmikus, a szabadonfutási periódus közel 24 óra. A *Drosophila* perifériás szövetei ún. cirkadián oszcillátorokkal rendelkeznek, amelyek a fiziológiai paraméterek, például a szaglási reakciók ritmusát befolyásolhatják (2).

Szintén az 1950-es évek végén jelentették először, hogy az egyszeri megvilágítás módosíthatja a cirkadián ritmus fázisát a kísérleti állatokban. Emellett azt is megfigyelték, hogy ezeknek a fáziseltolódásoknak a nagysága és iránya a sugárzás intenzitásától és időtartamától függ (7). A cirkadián ritmusok egyik karakterisztikus tulajdonságát ismerték fel, hogy képesek szinkronizálódni külső jelekre, mint pl. a fény-sötétség ciklusra. Bár a cirkadián ritmusok fennmaradhatnak külső időjelzések hiányában is (ami azt jelenti, hogy nem a környezet vezérli őket), általában ezek a jelzések jelen vannak, és a ritmusok igyekeznek hozzájuk igazodni. Ennek megfelelően, ha a külső jelzésekben eltolódás történik, a ritmusok az új jelzésekhez igazodnak. Ezt a fajta igazodást az '*entrainment*' angol szó fejezi ki legpontosabban. Erre egy jó példa a kutatók azon felfedezése, hogy a szervezet válasza a fényre (azaz, hogy a ciklus előrehalad, de ezen belül késik-e vagy változatlan marad) attól függően változik, hogy a ciklus melyik fázisában jelenik meg. Így a világosabb fénynek való kitettség, vagyis az intenzitás változása, egyes fajoknál meghosszabbíthatja, más fajoknál pedig lerövidítheti a periódust. Ezt a jelenséget „*Aschoff szabályának*” nevezik, felfedezője a biológus Jürgen Aschoff (1913-1998) alapján, aki a híres Freiburg-i patológus Ludwig Aschoff (1866-1942) kisebbik fia. Annak ellenére, hogy továbbra is a fény-sötétség ciklust tekintjük a legjelentősebb órajelzésnek az élőlények számára, mégis számos más faktort is leírtak a későbbiekben. Ilyen tényezők a szociális interakciók, testmozgás, hőmérséklet és egyéb változók (6).

A cirkadián ritmus és azon belül az emlősök cirkadián óra genetikai hátterének megértéséhez vezető áttörések az 1970-es évekre vezethető vissza. Ron Konopka (1947-2015) és Seymour Benzer (1921-2007) a Kaliforniai Technológiai Intézetben kémiai mutagenézis segítségével hozták létre az első cirkadián óra mutáns egyedét a *Drosophila melanogaster* (gyümölcslégy) fajból (8). Konopka, aki Benzer laboratóriumának végzős hallgatója volt, fenotípus alapú szűrést végzett mutagénnek kitett legyekről. Három különböző periódus mutánst sikerült izolálnia, a lárvák kikelése szempontjából, hosszú (*perL*=period long), rövid (*per*=period short) és aritmikus (*per0*) mutánsokat, amelyek egyetlen genetikai lókuszra voltak visszavezethetőek. Ezek a mutáns legyek a mozgásszervi aktivitás ritmusában hasonló hibákat mutattak, amelyek észlelését a Yoshiki Hotta (1938-) által, szintén Benzer laboratóriumában kifejlesztett automata képernyő segítette elő. Ez a kvantitatívabb és tartósabb tulajdonság lett a mutánszűrések preferált fenotípusa a következő 30 évben (3). Ezen fenotípusok mind egyetlen gén mutációból származnak, amelyet periódusnak (*per*) neveznek. A rövid periódusú mutáns legyek (*pers*) agyának az aritmikus *per0* legyek hasába történő transzplantációja jellegzetes rövid periódusú cirkadián ritmikusságot indukált a *per0* gazdák viselkedésében. A ritmicitás jelenlétét a *per0* viselkedésben maga a transzplantációs eljárás nem indukálta, mivel a *per0* agynak a *per0* gazdák hasába történő transzplantációja nem eredményezett cirkadián viselkedési mintákat (2).

John Farquhar Fulton (1899-1960) és Percival Sylvester Bailey (1892–1973) több mint 40 évvel az SCN pacemaker szerepének felismerése (1929) előtt arra tettek kísérletet, hogy a hipotalamusz elülső csúcsát azonosítsák és az alvás/ébredés időzítéséért felelős helyet felfedezzék (7). Őket követve Irving Zucker és Robert Y. Moore (1931-) publikált egy tanulmányt, amelyben a patkány SCN bizonyos régióinak pusztulása okozta cirkadián ritmusváltozásokat vizsgálták (8). Ezek után az 1980-as években ezen kísérleteket tovább folytatva ismertették, hogy mi történik, ha az SCN elpusztult területeire magzati SCN szövetet ültettek, akkor a donor állat cirkadián órájának megfelelően visszaállt az óraműködés. E kísérlet egyértelműen

rávilágított arra, hogy az SCN lehet az a terület az emlősök agyában, ahol a circadián ritmus létrehozása zajlik (8).

Szintén 1980-ban történt az emlős circadián működés genetikai hátterének megértésében az egyik legfontosabb áttörés. Ez a szíriai aranyhörcsögben véletlenül felfedezett *tau* mutáció volt (8). Találtak ugyanis egy hím hörcsögöt (*Mesocricetus auratus*), amely abnormálisan rövid periódusidőt mutatott állandó sötétben (DD). Míg az aranyhörcsögök normál periódusideje átlagosan 24,1 óra, és ritkán rövidebb 23,5 óránál, addig a kóros hím szabadfutási ideje 22,0 óra volt, 3 hétig stabilan. Amikor fény-sötét (LD) ciklusnak tették ki, amely 14 óra fényből (100 lux) és 10 óra sötétből (LD 14:10) állt, az állat alkalmazkodott. Ez azonban abnormális volt; az aktivitás körülbelül 4 órával korábban következett be, mint a normál állatoké. Ezekből az adatokból arra a következtetésre jutottak, hogy az abnormális alkalmazkodást mutató, egyed genetikai háttere egyetlen autoszomális mutáció következménye, amely hasonló a *tau* gén mutációjához, ami befolyásolja a circadián periódust (9).

Néhány évvel később, az 1980-as évek közepén a periódusgént egymástól függetlenül klónozták Michael W. Young (1949-) és Michael Morris Rosbash (1944-) laboratóriumában. Kimutatták, hogy egy nagy, több mint 1200 aminosavból álló fehérjét kódol. A transzgenikus kísérletekben ennek a génnek a vad típusú másolatának expressziója helyreállította a normális viselkedési ritmust az aritmiás *per0* legyekben. Ezeknek a mutánsoknak számos korai tanulmánya rávilágított a circadián ritmusok periódusos fenntartásának szerepére. A géneként eltérő kópiaszámot hordozó legyek viselkedés elemzése kimutatták, hogy az időszak hossza függ a génmennyiségtől, magasabb dózisban csökkentette a periódus hosszúságát (3).

A PER transzkripciós faktorként betöltött lehetséges szerepére az első utalás 1988-ban érkezett, amikor azonosították a *Drosophila* *single-minded* gént, amely a PER időszaki géntermékhez hasonló szekvenciájú magfehérjét kódol. A második óragén TIM (timeless) felfedezése Michael W. Young által az 1990-es években választ adott a kérdésre. Young csoportja azt találta, hogy a *tim* mRNS szintje a *per* mRNS-sel fázisban oszcillál, és hogy a *tim* mutáns elnyomja a *per* mRNS szintek ritmusát, és megszünteti mind a ritmikus bábéleződést, mind a mozgási aktivitást. Az autonóm oszcilláció fenntartásához azonban pozitív bemenetre van szükség, amely elősegíti a *tim* és *per* transzkripcióját. Joseph Takahashi (1951-) majd partnere felfedezte a *Clock* gént egérben, és megállapította, hogy a *CLOCK*-*BMAL1* heterodimerek, amelyek az *Ebox* promóterhez kötődnek, pozitív bemeneti komponensként szolgálnak a transzkripciós oszcillációk meghajtásához. Fontos, hogy a PER és a TIM gátolja a *Drosophila* *CLOCK* aktivitását, ezáltal lezárja a circadián visszacsatolási hurkot (5).

A légyfehérjék esetében leírták a PAS domént tartalmazó transzkripciós faktor heterodimert (*Clock*-*Cycle* (*CLK*-*CYC* [ortológok emlősökben: *CLK*-*BMAL1*]) és a negatív szabályozó faktort (periódus (PER [ortológok emlősökben: *PER1*, *PER2*])). Ezek az összefüggések arra utalnak, hogy egy hasonló, alapvető óramechanizmus jelen volt egy közös ősből, a rovarok és emlősök több mint 500 millió évvel ezelőtti szétválása előtt. Egyesek azt állítják, hogy az alapvető óramechanizmus és a fehérjék kapcsolata a Neurospora-ban is hasonló, ami még tovább tolná a közös ősidőt. Mivel sok más fehérjeosztály esetében nem ez a helyzet, az kissé túlzó feltevés, hogy a circadián ritmus legalább kétszer alakult ki, egyszer a mai cianobaktériumok egyik ősből, majd ismét az állatok ősből. (Több mint két evolúciós eredet is lehetséges, mivel a növényi circadián fehérjék eltérő halmaza egy harmadik független eredetet jelezhet). Mivel a cianobaktériumok néhány korai változatát általában az oxigén körülbelül 2,4 milliárd évvel ezelőtti növekedésének tulajdonítják, és a többsejtű eukarióták körülbelül 1,5 milliárd évig nem jelentek meg, a cianobaktériumok ritmusának fejlődése valószínűleg jóval megelőzte az eukarióta ritmusokat.

Legyekben mutatták ki először, hogy az óra kulcskomponenseinek mRNS-szintjei oszcilláción mennek keresztül, transzkripciós visszacsatolás következtében. Kondo Takao (1948-) és munkatársainak későbbi munkái, különösen az in vitro biokémia területén azt jelzik, hogy a Kai A-B-C komplex poszt-transzlációs foszforilációs-defoszforilációs ciklusa a cianobaktériumok kvarekristálya, a transzkripciós ritmusok pedig jórészt downstream következménye, vagy másodlagos értékűek. Az in vitro biokémia nélkülözhetetlen a cianobaktériumok óramechanizmusának megértéséhez (10).

Az 1990-es évek elején a North-western Egyetem kutatócsoportja radikálisnak, vagy konzervatívnak tekinthető megközelítést alkalmazott az emlős óragének felkutatására. Konzervatív, mert ugyanazt a megközelítést alkalmazták a gyümölcslegyekkel és gombákkal foglalkozó kutatók: kémiai mutagént használtak, hogy magas mutációs rátát idézzenek elő állatokban, és szűrjék a későbbi utódait a cirkadián fenotípus esetleges változásaira. Radikális, mert akkoriban azt hitték, hogy egy ilyen megközelítés nem lenne életképes emlősöknél, több okból is. Ezek közé tartozott az a hit, hogy a mutációs ráta olyan alacsony lesz, hogy annyi állatot kell majd szűrni, mielőtt „szerencsés találatot” adna, hogy addigra a kutatók már nyugdíjba mennének és a teljes kutatási költséget az állatgondozásra használnák fel. Ezen kívül általános volt az a nézet, hogy az emlősök összetett viselkedése sok gént érint és egy gén szerkezetébe és működésébe való beavatkozás nem okozna elég egyértelmű változást a fenotípusban ahhoz, hogy mutáns állatokat azonosítani lehessen. E fenntartások ellenére látványos sikerrel alkalmazták a mutagenézises megközelítést. A domináns vagy félig domináns mutációk szűrése a cirkadián ritmus vizsgálata olyan hím egerek utódainál, amelyeket kiválasztott kémiai mutagénnel kezeltek, amelyről ismert, hogy nagy arányban mutációt indukál a csírvonalban (11).

Mindezek alapján a mozgásszervi aktivitás ritmusát állatokon vizsgálták LD (világos-sötétség) és szabadon futó állandó sötétség (DD) körülmények között. A mutagenizált állatok utódainak szűrése során nagyon korán egyetlen hím állatot találtunk, amely a szabadonfutó ritmusának periódusa egyértelműen megváltozott. A normál, körülbelül 23,7 órás szabadfutási periódus helyett, amelyet a szűréshez használt egértörzsben figyeltek meg, ennek az egy állatnak a cirkadián periódusa körülbelül 24,7 óra volt. Bár ez az időszak változása elenyészőnek tűnhet, hat szórással változott az eredetileg tesztelt több mint 300 másik állat átlagától. Ezért az állatot tovább tenyésztették, és megállapították, hogy a megváltozott időszak genetikai eredetű. Valójában ez az egyetlen állat több mint 20 utódot hozott létre, amelyeknek körülbelül a fele meghosszabbodott szabadonfutási periódust mutatott. Ennek alapja, hogy ha az alapító állatnak volt egy mutáns génje (clock néven), amelyben az új allél vagy domináns, vagy félig domináns és ez határozta meg a fenotípust. Mostanra lehetőség nyílt egy „előremutató genetikai” megközelítésre (amely a viselkedéstől a génig terjed) és a clock gén azonosítására. Ez azt jelenti, hogy egy megváltozott fenotípus azonosítása után a meiózisban lévő gének véletlenszerű válogatását és az azt követő öröklődésüket használják fel annak a génnek a helyének felderítésére, amely felelős a vizsgált fenotípusért. Egy ilyen megközelítéshez a faj nagy felbontású genetikai térképére van szükség, hogy a gén, a genom egy elég kis régiójában lokalizálható legyen a klónozáshoz. Egy ilyen térkép elérhetővé vált (és a clock gén felfedezése során egyre finomodott az egér modellek esetében. Ez volt az egyik fő oka annak, hogy ezt a fajt választották az ezek után továbbfejlesztett genetikai megközelítéshez. Különböző molekuláris és genetikai megközelítéseket alkalmazva a North-western egyetemen Joseph Takahashi (1951-) vezette kutatócsoport végül klónozte az clock gént, és felfedezte, hogy egy körülbelül 100 000 bázispárból álló gén egyetlen pontmutációja vezetett a megváltozott óra fenotípushoz (11).

A növények cirkadián órájáról is rengeteg új ismeretet szerezhettek a kutatók, a levélmozgások kezdetleges tanulmányozása óta. Ma már ismert, hogy a cirkadián szabályozás alatt álló tulajdonságok köre

jelentős, és magában foglalja a növekedés és az anyagcsere számos aspektusát, valamint az abiotikus és biotikus környezettel való kölcsönhatást. A növényi cirkadián óra molekuláris biológiai vizsgálata három fényel indukálható transzkriptum felhalmozódásának megfigyelésével kezdődött. Ezek a klorofill a/b-kötő fehérjét, a *Rubisco* kis alegységét és egy korai fényindukált fehérjét (ELIP) kódolnak, amelyek jelentősen oszcillálnak világos/sötét (LD) ciklusban termesztett borsóban. Emellett ezek az oszcillációk megmaradtak a folyamatos fénybe (LL) átvitt növényekben is. Hamarosan megfigyelték a transzkriptum mennyiségének cirkadián szabályozását több zárwatermő fajban, beleértve a búzát, a paradicsomot, a dohányt, a kukoricát és az *Arabidopsis*-t. A növények cirkadián ritmusának kezdeti molekuláris biológiai leírása egybeesett az *Arabidopsis*, mint a molekuláris genetikai elemzések modellnövényeként való megjelenésével. Az *Arabidopsis* attribútumai elősegítették a gyors előrehaladást a növénybiológia számos aspektusában, beleértve a cirkadián órát is, amelyet mára jelentős felépítési-, és funkcionális részletekben írtak le. Az olyan modellnövények értéke, mint az *Arabidopsis*, a modellben megszerzett tudás extrapolációjából adódik (4).

Az eukarióta órák lehetséges evolúciójában létezik egy elmélet, amelyet fontos megemlítenünk. A „*flight from light*” hipotézis az órák korai evolúciós eredetét feltételezi. Ezzel összhangban van a *cianobaktérium* óra jellemzése, valamint a peroxidredoxin redox állapotában a cirkadián ritmus leírása baktériumokban és Archaeában, valamint eukariótákban. Ez utóbbi ritmus a reaktív oxigénfajtákra adott sejtválaszhoz kapcsolódik, és valószínűleg az oxigénes fotoszintézis fejlődésére és a molekuláris oxigén felhalmozódására adott választ. Nagy Oxidációs Esemény bizonyíthatja, hogy a természetes szelekció már jóval az eukarióták keletkezése előtt előnyben részesítette a cirkadián órákat. Az eukariótákon belüli több független óra eredete valószínűtlennek tűnik, tekintettel a bizonyítékokra, vagyis a baktériumokban és archaeákban fellelhető cirkadián órára (4).

A legyek cirkadián ritmusának genetikája megvilágította a központi óra működési elvét, és biztosította azokat az eszközöket, amelyek segítségével az emlősökben is megfigyelhető a megőrzése. Későbbiekben a legyek és emlősök cirkadián ritmusának genomikai elemzése feltárta a kimeneti jelzések fiziológiájának konzerváltságát, ami új utakat nyitott meg a legyek modellrendszerként való felhasználásában, a viselkedés napi molekuláris szintű szabályozásának megértésében. Mivel a *Drosophila* fiziológiájának és viselkedésének számos aspektusa bizonyos napszakokra korlátozódik, így az emberi cirkadián szabályozás molekuláris vizsgálatának modellrendszerévé vált (3). A felsorolt molekuláris biológiai kutatások csúcspontjának tekinthető az úgynevezett transzkripciós transzlációs visszacsatolási hurok (TTFL) modell létrehozása, egy autonóm oszcillátor generálására ~24 órás időtartammal. A 2017-es fiziológiai és orvosi Nobel-díjat a cirkadián ritmust szabályozó molekuláris mechanizmusokkal kapcsolatos felfedezéseik elismeréseként ítélték oda (5).

A cirkadián óra működése a különböző fajokban

Amikor a cirkadián óra működéséről beszélünk, lényeges meghatároznunk, hogy a sejtekben, molekuláris szinten zajló óramechanizmusokról, vagy egy adott élő szervezetben, szöveti szinten, a környezeti hatásokra adott válaszról van-e szó. Ezen bekezdésben a cirkadián működés mindkét aspektusáról említést teszünk.

Általánosan elmondható, hogy egy cirkadián rendszer három fő egységből áll: bemeneti utak, amelyeken keresztül környezeti információkat juttatnak el az oszcillátorhoz, központi oszcillátor, amely cirkadián periódusú oszcillációt generál, és kimeneti útvonalak halmaza, amelyek a nyílt metabolikus, fiziológiai és viselkedési folyamatokat irányítják, vagyis a ritmusok. A természetes szelekció a ritmust szabályozó

kimeneti pályákra hat, de nem az oszcillációt generáló oszcillátoráramkörökre. Így lehetséges olyan transzkripciós áramkörök kifejlesztése, amelyekben az összetevők változnak, de a logika megmarad (4).

Az ezirányú kutatások eredményei alapján elmondható, hogy a cirkadián óra fő mozgatórugója egy transzkripciós-transzlációs autoregulációs visszacsatolási hurok. A hurok különböző pozitív és negatív szabályozási elemből áll (fehérjék), amelyek egymással folyamatos interakcióban állnak és ezáltal egy időeltolódást hoznak létre a kulcselemek ciklikus transzkripciójában. Gyümölcsleegyben a pozitív faktorok (dCLOCK és dBMAL1) aktiválják az óragének (per, tim, stb.) transzkripcióját azáltal, hogy specifikus szabályozó elemeket (E-boxok) kötnek a promóter régiójukban. Az RNS-k ezután a citoplazmába kerülnek, ahol proteinszintézis zajlik néhány óráig. Az így keletkező fehérjék poszt-transzlációs módosításokon mennek keresztül, amely a citoplazmában lévő koncentrációjukat kontrollálja, és amelyek segítségével interakcióba léphetnek egymással. Ezen módosítások segítik hozzá a fehérjék bejutását a sejtmagba, ahol a negatív komponensek képesek leállítani a saját és más gének átírását. Az említett inhibíció többféleképpen is végbe mehet, akár közvetlen interakcióval a pozitív és negatív faktorok között, akár a promótereken lévő szabályozó faktorok módosításával. A negatív visszacsatolás megszűnésével (adott fehérjék degradációjával) újraindul a hurok (8).

A cirkadián óra minden sejtben működik, de az óra különböző mechanizmusokat használ az mRNS-ritmusok létrehozására a különböző szervezetekben, egy meglehetősen átfedő génkészletet használva. Ezért az emberi egészség cirkadián ritmusának jobb megértését célzó tanulmányok első szükséges lépése az, hogy átfogó referencia cirkadián transzkriptom térképeket készítsünk különböző szervekről. Ezen transzkriptom-térkép létrehozása eddig még nem valósult meg, ugyanis több emberből származó szövetbiopsziás mintákon végzett időzített mérések nehézségekbe ütköztek. Ezen kívül számos alapvető „háztartási” funkció a különböző szövetekben, beleértve a fehérjeszintézist és -szekréciót, a DNS-károsodás helyreállítását, az autofágiát, a tápanyag-anyagcserét és a sejtes védekezési mechanizmusokat, úgy tűnik, cirkadián modulációt mutat. A cirkadián transzkriptomok és metabolómák nem statikusak; az étrend, az alvás és az étkezési idő befolyásolja őket (12).

Mivel a cirkadián órák az evolúció korai szakaszában fejlődtek ki, várható, hogy a különböző fajok között néhány közös, megőrzött mechanizmust láthatunk. Intuitív módon hasonlóságokat várunk molekuláris szinten és több fajfüggő folyamatot sejt, szövet és szervezet szinten. A cirkadián órák funkcionális és felépítési jellemzői (szinkronizálás, regionális oszcillátorok) azonban arra utalnak, hogy még a sejt- és szöveti szerveződési szinteken is hasonló mechanizmusok léteznek a fajok között. Például van ahol a különálló neuronális pacemaker sejtek képesek cirkadián ritmust kifejezni hálózati bemenet hiányában, más élőlényekben pedig úgy tűnik, képesek egy ritmust generálni a mozgásszervi aktivitásban. A morfológiai és fiziológiai különbségek ellenére úgy tűnik, hogy a közös alapelvek érvényesek minden neuronális cirkadián pacemakerre: i) az elektromos aktivitás csúcspontja a nap folyamán van, függetlenül attól, hogy az állat milyen aktív viselkedést mutat, ii) az elektromos aktivitás cirkadián modulációját a káliumcsatornák modulációja okozhatja és iii) a cirkadián ritmus fenntartása membrán ingerlékenységet igényel, esetleg kalcium mediátorként történő felhasználásával (2).

Egy jelentős szempont a cirkadián órák tanulmányozásában, hogy számos, a külső környezetből érkező külső ingerre képesek reagálni. Az egyik legjelentősebb ilyen inger, a fény. Ezen inger számos aspektusa befolyásolhatja az óra működését az élő szervezetekben. Az is ismert, hogy az órát a nappal-éjszaka ciklus szinkronizálja, lehetővé téve a szervezet számára, hogy ne csak a Föld forgásának tulajdonítható napi fény-sötétségi ciklusokhoz alkalmazkodjon, hanem a nappal és az éjszaka relatív terjedelmének, a Föld

tengelyének elfordulása miatti változásához is. Így a napi korrekción áteső cirkadián időzítési mechanizmus szezonális időzítőként is hasznos (3). Emellett a cirkadián óra érzékeny a fényexpozíció időzítésére. A szubjektív nap közepén, amikor fény várható, nincs hatása a fázisra. A szubjektív szürkület (vagy kora éjszaka) körül beadott fényimpulzus azonban fáziskésést okoz, míg a szubjektív hajnal (vagy kora reggel) közelében lévő fényimpulzus fázis előrelépést okoz. Ezt a különböző fényérzékenységet fázisválasz görbének nevezik, és az óraműködés egyik jellemzője a fajok között. A természetben ez a tulajdonság lehetővé teszi, hogy az óra időzítő eszközként működjön a nap hosszának mérésére, lehetővé téve az élőlények számára, hogy szinkronizálják fiziológiájukat az évszakok változásával (lehetővé teszi azt is, hogy a repülőgépes utazók alkalmazkodjanak az új időzónákhoz) (3).

Azon cirkadián ritmusokat, amelyek a környezettől érkező 24 órás jelzések hiányában működnek, szabadon futó ritmusoknak nevezik. Ennek a jelentése, hogy a ritmus nincsen szinkronizálva a környezetből érkező ciklikus változás hatására. Szigorúan véve, csak azon diurnális ritmusokat lehetne circadiánnak nevezni, amelyekről bebizonyították, hogy állandó módon működnek konstans környezeti feltételek mellett. Ezzel szemben szinte minden diurnális ritmusnak találtak, már cirkadián vonatkozását (6).

Mindezek mellett az is ismert már, hogy a cirkadián órák akkor is változatlanul működnek ha a külső környezetből éppen nem érkeznek időjelek, mint például a fényintenzitás változása. Az egyes ciklusok periódushossza ("Tau" vagy " τ ") körülbelül 24 óra, állandó körülmények között (például állandó sötétség). Ezért annak érdekében, hogy a cirkadián óra pontosan jelezze az időt, minden nap újra kell állítani (vagy fáziseltolást kell tenni) a megvilágítási rend (vagy fotoperiódus) szerint. Ezeknek a ritmusoknak a molekuláris alapja egy negatív visszacsatolási hurkon alapul, amelyben az órafehérjék negatívan szabályozzák saját mennyiségüket vagy aktivitásukat. Ez a szabályozás mind transzkripciós, mind poszt-transzkripciós szinten előfordulhat. Például a *Neurospora crassa* gombában a Frq fehérje negatívan szabályozza saját transzkripcióját azáltal, hogy megzavarja a white collar-1 és white collar-2 (WC-1 és WC-2) fehérjék frq transzkripciót aktiváló képességét. Hasonlóképpen, a *Synechococcus* cianobaktériumból származó óra, három gén – kaiA, B és C – egyetlen klaszteréből áll, amelyek mRNS szintje cirkadián módon oszcillál, és amelyek fehérjetermékei szabályozzák a kai lókuszt expresszióját (13).

A mai prokarióta és eukarióta cirkadián rendszerek közötti különbségek - a transzkripcióhoz, a DNS-hez és a fényhez való viszonyukban-lehetséges nyomokat kínálhatnak a jobb megértéshez. A cirkadián ritmusok fontosak a fotoszintetikus organizmusok, például a cianobaktériumok élete szempontjából. Sok cianobaktérium faj metabolizmusának nagy részét cirkadián transzkripciós szabályozás alatt szervezi. Ez egy szelekciós előnyt jelent, ugyanis lehetővé válik a fotoszintézis gének megfelelő időben történő átírása, a világos-sötét ciklusnak megfelelően (10).

A cirkadián óra egy másik, fontos tulajdonsága az úgynevezett hőmérséklet-kompenzáció, amelyet számos faj esetén megfigyeltek. A hőmérséklet-kompenzáció azt a tényt tükrözi, hogy a cirkadián periódus hossza alig változik a hőmérséklet függvényében (fiziológiás tartományon belül) (10).

Ha a különböző fajok óraműködését, azok hasonlóságait és különbségeit vizsgáljuk, következtethetünk a cirkadián órák evolúciójának főbb eseményeire is. Bár az egysejtű szervezetekre vonatkozó tanulmányok a cirkadián ritmust generáló rendszer sejtes természetére mutatnak rá, a magasabb rendű szervezetek cirkadián irányító rendszere a szervezet specifikus struktúrát alkotó sejtjeiben található. Ilyen struktúrák jelenthetik az agy bizonyos régióit (azaz a látó- és agylebenyeket) a rovaroknál; bizonyos gerinctelenek és gerincesek esetében a szemeket; illetve a tobozmirigyeket, a nem emlős gerinceseknél. Emlősökben a

cirkadián óra két idegsejt-csoportban, az úgynevezett suprachiasmaticus nucleusban (SCN) található, amelyek az agy alján található régióban, az elülső hipotalamuszban találhatók. A közelmúltban azonban a kutatók meglepődve tapasztalták, hogy cirkadián ritmusok fennmaradhatnak izolált tüdőben, májban és más olyan tenyésztőedényben (azaz *in vitro*) növesztett szövetekben, amelyek nem voltak az SCN ellenőrzése alatt (6).

Egészen a közelmúltig a cianobaktériumok voltak az egyetlen olyan prokarióták, amelyek cirkadián ritmust mutattak a kutatások során. Az órát feltételezhetően három génből álló klaszter irányítja: *kaiA*, *kaiB* és *kaiC*. A különböző nyilvános adatbázisokból származó 70 teljes prokarióta genom szekvenciaadatait felhasználva megmutatták, hogy a *kai* gének és homológjaik egészen eltérő evolúciós történettel rendelkeznek, és előfordulnak az archaeákban és a proteobaktériumokban is. A három gén közül evolúciós szempontból a *kaiC* a legidősebb, a *kaiA* pedig a legfiatalabb, és valószínűleg csak cianobaktériumokban fejlődött ki. Adataink azt sugallják, hogy a prokarióta cirkadián pacemaker a Föld geológiai történetével párhuzamosan fejlődtek, és a természetes szelekció, a többszörös oldalirányú transzfer, valamint a génduplikáció és -vesztés volt a fő tényező, amely befolyásolta fejlődésüket. A cianobaktériumok adaptációs stratégiájában a cirkadián óragének különösen fontosak, mivel olyan alapvető élettani folyamatok hátterében állnak, mint a nitrogénkötés szabályozása, a sejtosztódás és a fotoszintézis. Az óragének mindenütt jelen vannak a cianobaktériumokban. A legtöbb esetben ezekről a génekről egyetlen másolatként számoltak be, bár néhányuk (*kaiB*) vagy akár egy egész klaszter is megkettőzhető. Kimutatták, hogy egyetlen egységként működnek, és a szabályozás visszacsatolási modelljét követik miszerint a *kaiA* pozitívan befolyásolja a *kaiBC* promotert, míg a *kaiC* túlzott expressziója elnyomja azt. Ezen gének közül a *kaiC* a cianobaktériumok óra pontosságának döntő összetevője (14).

Az alapvető transzkripciós-transzlációs visszacsatolási hurok-modell, amelyben a PER/TIM a CLOCK/CYCLE-vel kötődik és gátolja saját géntranszkripcióját, a *Drosophila* esetén jött létre és a cirkadián órák kanonikus modelljének tekinthető. Ezt a modellt használták alapként ezután más élőlények órájának felderítése során. Bár a magfehérjék nem konzerváltak fajok között, ami azt jelenti, hogy a cirkadián órák többször fejlődhetnek, a TTFL mag szerkezete nagyon hasonló emlősökben, növényekben, a fonalas gombában a *Neurospora crassa*-ban és a *Synechococcus aureus* cianobaktériumban. Érdekes módon a cianobaktériumban a KaiC-foszforiláció hőmérséklet-kompenzált cirkadián oszcillációja még transzkripció és transzláció hiányában is helyreállítható a kémcsőben, egyszerűen rekombináns fehérjék és ATP hozzáadásával. A legújabb tanulmányok a transzkripciótól független cirkadián oszcillációk jelenlétét is nyomon követhető, a peroxiredoxin fehérjék oxidációs állapotának vizsgálatával emberi vörösvértestekben, algákban és az élet minden területén. Az összes életformában előforduló órák evolúciós előnyére utalnak, hogy képesek vagyunk előre látni és alkalmazkodni a napi változó környezetekhez (5).

A *Drosophila*-ban az óragének: Per és Tim átírását egy dCLOCK (dCLK) és CYCLE (CYC) fehérjékből álló komplex aktiválja. A Per és a Tim viszont gátolja saját transzkripcióját a CLK/CYC-hez való kötődés révén. Egy visszacsatolási hurok, amely a CLK/CYC-t és két másik gént, a *vri*-t (*vri*) és a PAR domén protein 1-et (Pdp1) tartalmazza, szabályozza a dClk ritmikus expresszióját. Hasonlóan más modellorganizmusokhoz az emlősökben is a transzkripciós és poszttranszkripciós visszacsatolási hurkokat feltételezik a cirkadián ritmusgenerálás alapjaként. Ennek a huroknak a pozitív végét a BMAL1, CLOCK és NPAS2 transzkripciós faktorok alkotják. Ezeknek a fehérjéknek a heterodimerjei (BMAL1-CLOCK vagy BMAL1-NPAS1) aktiválják a hurok negatív komponenseinek transzkripcióját, például a Period (Per) és a Cryptochrome (Cry) óragéneket. A PER és CRY fehérjeszintek felhalmozódásával heterodimereket képezhetnek, amelyek gyengítik a CLOCK/BMAL1 és CLOCK/NPAS1 által kiváltott Per és Cry

transzkripciót. Ahhoz, hogy pacemakerként működjön, az oszcillátornak megbízható és egyértelmű kimeneti jelet kell biztosítania, amelyet a test más részeire továbbíthatnak. Az adaptív érték eléréséhez a cirkadián ritmusok fázisát szinkronizálni kell a környezettel, amihez fototranszduktív rendszerek bemenetére van szükség. A ritmus amplitúdójának elég nagynek kell lennie ahhoz, hogy a ciklus egyik fázisában tevékenységet hajtson végre, a másik fázisban pedig elnémítsa a szervezetet. Idős állatoknál és embereknél az amplitúdó csökkenése, valamint az aktivitásra és az alvásra gyakorolt káros hatások figyelhetők meg, ami kiemeli ennek a paraméternek a fontosságát (2).

A csótányok és a tücskök nagy hasonlóságokat mutatnak cirkadián rendszerükben. A kétoldali elhelyezkedésű, egymással összekapcsolt optikai lebenyes pacemakerek szabályozzák a ritmikusságot, a legtöbb viselkedési és élettani folyamatban. A PDF (pigment dispersing factor) neuronok központi szerepet játszanak a csótány és tücsök cirkadián rendszerében, nemcsak pacemaker neuronként, hanem a kimenet, a csatolás és a szinkronizálás szabályozásában is. Míg számos tanulmány rámutat másodlagos agyi oszcillátorok létezésére a tücskökben és a csótányokban, a ritmikusság szabályozásában betöltött szerepüket még tisztázni kell. Míg a két optikai lebeny pacemaker közötti kapcsolat erősebb a csótányban, mint a tücsökben, úgy tűnik, hogy ez mindkét fajban befolyásolja a mozgási ritmusok szabadfutási periódusát. A csótányok esetében bizonyíték van arra, hogy a kétoldali pacemakerek összekapcsolódása hozzájárul a fototikus alkalmazkodáshoz (2).

Mind az *Aplysia*, mind a *Bulla* csigafajok cirkadián pacemakere a szemekben, a látóideg közelében található. Az egyik szem belüli egyes bazális laterális neuronok vagy pacemaker neuronok elektromosan kapcsolódnak egymáshoz. Kétoldali csatolási mechanizmusok vannak jelen a két retina óra között, Bullában erősek, *Aplysia*-ban gyengék (2).

Emlősökben egy óráközpont (pacemaker) található a suprachiasmaticus nucleusban (SCN), amely a látóidegek kereszteződése felett helyezkedik el. A cirkadián óra számos szinten szabályozza a fiziológiát, a génexpressziótól a komplex viselkedésekig (például alvás és teljesítmény). A Nap szerinti és a társadalmi idő (állandó körülmények) figyelembe vétele nélkül, a biológiai óra „szabadon fut” 24 órás endogén periódussal. A való életben a cirkadián órákat általában 24 órára szinkronizálják a zeitgebernek. A legfontosabb korszak a fény (és a sötétség), amely az összes többi környezeti jel napi ritmusáért is felelős. Sok más állattól eltérően a fényt emlősökben kizárólag a szem érzékeli, a csapok, pálcikák és egy nemrégiben felfedezett további retina fotopigment, a melanopszin kombinációja révén, amelyről kiderült, hogy a ganglion sejtrétegben szétszórva van. A retina jelei a látóidegek kollaterálisain keresztül jutnak el az SCN-hez, ahol (glutamáterg bemenetként) pontosan 24 órára szinkronizálják az SCN neuronok által keltett napi ritmust. Ritmikus kimenetein keresztül az SCN koordinálja az összes sejt cirkadián óráját a test szerveiben és szöveteiben, hogy a fiziológiát a Föld forgásához igazíthassák. Az alkalmazkodásnak nevezett aktív folyamat biztosítja, hogy a biológiai óra stabilan szinkronizálva legyen a külső jelekhez. Fázisától függően a cirkadián óra eltérően reagál egy zeitgeber ingerre: egyes fázisokban (pl. késő estétől kora reggelig) a fény előreviszi az órát, másokban, például délután és este a fény késlelteti. A nap közepén a cirkadián óra alig vagy egyáltalán nem reagál a fényre. A napi emberi viselkedést főként kérdőívvel értékelték, amelyek célja, hogy az egyéneket a „*reggeli-esti*” időbeli preferenciákkal társítsák (15).

Az SCN emlős pacemakere több, egysejtű szinkronizált oszcillátort tartalmaz. Mindegyik SCN-mag két anatómiailag és funkcionálisan különböző régiót tartalmaz, a ventrolateralis SCN-t vagy magot és a dorsomedialis SCN-t vagy héjat. Ezek a régiók összekapcsolódnak, és különböző tulajdonságokat mutatnak, a környezetből érkező, eltolódott fény-sötét ciklus vizsgálatokor. Az emlősök viselkedésében és

fiziológiájában megfigyelt számos jellemzőt, mára az SCN szöveti szintjén megmagyarázták. A viselkedésben az állandó fény által kiváltott ritmuszavar, a deszinkronizált ritmusú egysejtű SCN oszcillátorok eredménye. Úgy gondolják, hogy ezen egysejtű sejtek közötti kapcsolódás a ritmikusság pontosabbá tételét eredményezi. Az antifázisú oszcillációk az SCN neuronok populációi között megmagyarázzák a viselkedési ritmusok kettéválását. Ezek alapján a naphossz kódolható az SCN-sejtek vagy SCN-régiók közötti fázisviszonyok megváltoztatásával. Ezek az eredmények hangsúlyozzák, hogy a cirkadián időzítési rendszer megfelelő működéséhez nélkülözhetetlenek az SCN-en belüli szinkronizálási és csatolási mechanizmusok. Az SCN és a periféria között is léteznek kölcsönhatások. Az SCN-n kívüli szövetek és folyamatok közvetlen hatással vannak az SCN neuronális aktivitására, és vagy eltolják a pacemaker fázisát, vagy gyengítik a fázis-visszaállítást fény hatására. Független oszcillátorok vannak jelen az SCN perifériáján, amelyek bizonyos fokú autonómiával rendelkezhetnek, de szükségük van az SCN-től érkező jelekre, hogy szinkronban maradjanak (2).

Az emlősállatokon végzett cirkadián kutatások alapján úgy tűnik, hogy a cirkadián óraműködésben bekövetkezett genetikai változás az alvási igényt is befolyásolja, ami felveti annak lehetőségét, hogy a cirkadián óra nemcsak az alvás és az ébrenlét időzítését, hanem az alvás homeosztatiszikus készítését is befolyásolja. Az a felfedezés, hogy a Clock mutációja befolyásolhatja az alvás időtartamát, felveti annak a lehetőségét, hogy a cirkadián óramutációval rendelkező állatok tanulmányozása más gének felfedezéséhez vezet, amelyek úgy szabályozzák az alvást. A Clock gén felfedezése közvetlenül vezetett második óra gén, a Bmal1 megtalálásához. Így a cirkadián funkciót és az alvás időzítését szabályozó gének megtalálása közvetve olyan gének kialakulásához vezethet, amelyek szabályozzák az alvás homeosztatiszikus hajtóerejét. Az alvás szabályozásában szerepet játszó új gének felfedezésének másik megközelítése az lenne, ha közvetlenül szűrnenk az alvás fenotípusának változásait mutagenizált állatok utódaiban, ahogyan azt az Clock gén azonosításakor egerekben tettük. Ezen kívül a cirkadián óragének és fehérjetermékek szerkezete, valamint a köztük lévő funkcionális kölcsönhatások hasonlóak az olyan változatos szervezetekben, mint a gyümölcslegyek és az egerek. Ez a hasonlóság arra utal, hogy az időbeli szerveződést szabályozó molekuláris mechanizmusok erősen konzerváltak az evolúciós időben. Ha ilyen konzerváció molekuláris vagy sejtszinten is megtörténik az alvási igényt szabályozó mechanizmusok tekintetében, akkor a Drosophila alvást szabályozó gének azonosítása közvetlenül vezethet az emlős alvásgének azonosításához (11). A Cryptochrome fehérjék cirkadián órában betöltött szerepe jól megfigyelhető emlősökben. A kékfény fotoreceptorok utáni kutatás vezetett két növényi fehérjéhez a Cry1 és Cry2 homológokhoz. Ezen fehérjék génjeinek kiütésével aritmia volt megfigyelhető a cirkadián működésben. A Cry1 és Cry2 gének dimert alkotnak a PER proteinekkel és ezen komplexel a saját és más gének expresszióját befolyásolják (8). Mivel a kriptokróm fehérjék szoros kapcsolatban áll a fotoliázzal, egy olyan enzimmal, amely fényt használ az UV sugárzás által kiváltott DNS-károsodás helyreállítására, a fény által kiváltott DNS-károsodásra való reagálás fő hajtóerő lehetett az eukarióták cirkadián ritmusának kialakulásában. A közelmúltban kimutatták, hogy a DNS-szintézis, a DNS-javítás és a sejtciklus szorosabb kapcsolatban állnak a cirkadián ritmusokkal és a fényel, mint azt korábban elképzelték, a neuropórákban és a metazoákban is. Például a zebrahal S fázisa fény- és cirkadián szabályozás alatt áll, és a Drosophila óraprotein TIM emlős homológjai szerepet játszanak a DNS-károsodási válaszban és talán a sejtciklusban is (10).

Végezetül tekintsük át, felsorolás szintjén az emlősökben, (beleértve az embert) lévő paramétereiket, amelyek változása a szervezetben, cirkadián óra szabályozással függ össze.

Cirkadián ritmust mutató folyamatok:

- Alvás-ébrenlét ciklusok
- Néhány óragén RNS/fehérje szintézise
- Testhőmérséklet
- Szívverés
- Vérnyomás
- Máj vérellátása és metabolizmusa
- Glomerulus filtráció
- Vizelet kiválasztás
- Savszekréció a gasztrointesztinális traktusban
- Locomotor (Drosophilában is)
- Lárvák kikelése (csak Drosophilában)

Ritmikusan létrehozott termékek

- Néhány óragén RNS és fehérje (emlősökben: Per, Bmal1, cry1, cry2; Drosophilában: Per, Tim, Clock, Cry)
- Kimeneti gének RNS/fehérje (DBP, TEF, HLF, CREM/ICER emlősökben; lark Drosophilában)
- Hipotalamusz-hipofízis-mellékvese tengely hormonok (CRF, ACTH, glukokortikoidok)
- Egyéb hormonok (TSH, pajzsmirigyhormon, mellékpajzsmirigy hormon, tesztoszteron, vazóaktív intestinalis peptid)
- Máj metabolikus enzimek (citokróm P450 hidroxilázok és konjugázok) (13).

A humán cirkadián óra

Minden élőlény napjait a nap és a biológiai ciklusok kölcsönhatása strukturálja. A napciklusok a Föld forgásának következményei, mivel felszíne időszakosan ki van téve a fénynek, illetve védve van tőle. A napi biológiai ciklusok egy endogén cirkadián óra eredménye, amely minden törzshöz tartozó szervezetben jelen van. A fény és a sötétség közötti változás számos jelet (fény, hőmérséklet, erőforrások elérhetősége stb.) hoz létre, amelyek jelzésként (*zeitgebers*) működnek és képesek szinkronizálni az endogén időzítő rendszereket. A technikai órák bevezetése hozzáadott egy harmadik időbeli dimenziót – a társadalmi időt –, amely befolyásolja az emberek mindennapi életét. Bár az időzónákat a folyamatosan változó szoláris idők figyelembevételére vezették be, ezek csak közelítések. Ennek következtében a Nap minden időzónán belül más társadalmi időben kel fel és nyugszik. Ennek az eltérésnek a legszélsőségesebb példája Kínában található, ahol a Föld területének egyhatoda hivatalosan pekingi idő szerint él. Nyugat-Kínában akkora a különbség a szoláris és a társadalmi idő között, hogy az állampolgárok nem a hivatalos időhöz igazítják életüket (15).

Emlősökben izolációs, ablációs, elektromos stimulációs és transzplantációs vizsgálatok azt mutatják, hogy a suprachiasmaticus nucleust (SCN) tartalmazó, körülbelül 10 000 hipotalamusz neuronból álló klaszter központi idegi pacemakerként működik a cirkadián ritmusok létrehozásában és/vagy kifejezésében és számos egyéb fiziológiai folyamatban beleértve a viselkedést. A fény az SCN fő környezeti szinkronizálója, ugyanis olyan speciális neuronokat tartalmaz, amelyek különösen érzékenyek a környezeti fény szintjére. Ezek a neuronok egy monoszínaptikus útvonalon, a retinohypothalamikus traktuson (RHT) keresztül kapcsolódnak a retinához, amelyen keresztül a környezet fény/sötétség ciklusára vonatkozó információ eljut az SCN-be. Bár a cirkadián ritmus és az SCN közötti kapcsolat megállapítására, más fajoknál alkalmazott kísérleti technikák nem használhatók embereken, a posztmortem vizsgálatok

kimutatták, hogy az emberi agy ugyanazokat a kulcsfontosságú szerkezeti elemeket tartalmazza – az SCN-t és az RHT-t –, mint más emlősöké (7).

Mindezek alapján az is elmondható, hogy a suprachiasmaticus magok (SCN) cirkadián pacemakert tartalmaznak, amely az emlősök fiziológiai és viselkedési ritmusainak széles skáláját szabályozza. Ha *in vitro* izolálják ezen szöveteket, továbbra is 24 órás ritmusokat produkálnak a metabolizmusban, a vazopresszin szekrécióban és a spontán elektromos aktivitásban. Mindez azt jelzi, hogy az óra cirkadián időmérő funkciói az SCN endogén jellemzői. Az ép állatban az SCN számos kiemelkedő afferenst kap. A direkt és indirekt vizuális utóhatásokkal együtt nagy szerotonerg (5-HTerg) vetületet kapnak a raphe magokból. A bizonyítékok arra utalnak, hogy az SCN-ben az 5-HTerg aktivitás általában rögzített mintázatban fordul elő, ami tükrözi az állat ciklikus izgalmát. Az 5-HTerg aktivitás növekedése korrelál patkányokban fokozott izgatottsággal, és az 5-HT és elsődleges metabolitjának szintjeiről kimutatták, hogy az SCN-ben oszcillálnak, a növekedés későn nappal vagy éjszaka következett be, párhuzamosan ezen állatok általános aktivitási mintázatával. Ez arra utal, hogy az SCN 5-HTerg aktivitás normál éjszakai növekedése napi szinten megváltoztathatja az SCN óra fázisát. Érdekes módon az intenzív futókerék-aktivitás fáziseltolódásokat indukál, és magával ragadja a rágsálók cirkadián ritmusát. A viselkedési aktivitás által *in vivo* indukált fáziseltolódások mintázata nagyon hasonló az itt bemutatottakhoz, amelyeket a kipazin *in vitro* indukál. Ezért lehetséges, hogy a viselkedés által kiváltott fáziseltolódásokat a raphe 5-HTerg bemenete közvetíti (16).

Az endogén cirkadián oszcillátor az alvás időzítésének és az alvás minőségének fő meghatározója az emberben. A napi alvási epizód spontán időtartama, az alvás időzítése és a REM-alvás megoszlása, valamint az alvási hajlam objektív és szubjektív mérőszámai mind jelentősen változnak a cirkadián fázis függvényében. Ezen kívül annak felismerésre jutoottak korábban, hogy az alvás, az éberség és a teljesítmény időzítése és megszervezése a mögöttes, közel 24 órás oszcilláció cirkadián fázisától függően még a deszinkronia során is változik (7).

Az idős emberekre és az úrhajósokra jellemző cirkadián fázis eltolódásának hátterében álló patofiziológiai mechanizmusok meglehetősen eltérőek, ennek ellenére a következmények számos párhuzamot mutatnak (7).

Pszichológiai szempontból érdekes, hogy ezek a ritmusok nagy egyéni különbségeket mutatnak. Ezen egyéni különbségek, a cirkadián fázispozíciók pszichológiai változókra való hatásában (pl. teljesítménymérések a nap különböző szakaszaiban) az utóbbi években egyre nagyobb érdeklődést váltottak ki a pszichológiai kutatásban. Az ún. 'délelőtti esti dimenzió' azt a tényt írja le, hogy egyes S-ek (reggeli típusok vagy „pacsirták”) a nappali tevékenységet részesítik előnyben; míg mások (esti típusok vagy „baglyok”) az éjszakai tevékenységet részesítik előnyben. Ezek a „nappali típusok” köztudottan különböznek az alvás-ébrenlét mintázataikban, valamint biológiai ritmusaikban, pl. testhőmérséklet. A reggeli típusok délelőtt meredekebb hőmérséklet-emelkedést mutatnak, nappal korábban érik el csúcshőmérsékletüket, mint az esti típusok. Ezek a diurnális típusok számos pszichológiai változóval is kapcsolatban voltak, mint pl. teljesítményváltozók különböző napszakokban, de emellett a személyiségjegyekre is (extraverzió, impulzivitás, szociabilitás) hatással voltak. A személyiségjegyek tekintetében az eredmények némileg heterogének. Gerard A. Kerkhof (1948-) 12 tanulmányt közöl, amelyek közül csak 4 talált szignifikáns összefüggést az extraverzióval (17).

Az egyéni különbségek abban, hogy a cirkadián órák a napon belül (korai vagy késői) hogyan hatnak természetes körülmények között mérhető emberekben egy egyszerű kérdőív segítségével (Munich ChronoType Questionnaire, MCTQ). Az így létrejövő „*kronotípusnak*” genetikai alapja van, de függ a megvilágítástól, az életkortól és a nemtől is. A kronotípus ismerete fontos mind az orvosi diagnosztika, mind a terápia (pl. kronofarmakológia) szempontjából. A modern társadalom számos kihívás elé állítja az emberek cirkadián beilleszkedését, a külső jelek erősségének hiánya miatt (főleg bent végzett munka), a transzmeridián utazások (jetlag) vagy a 7/24-es munkabeosztások miatt (műszakos munka) (15). Megállapítható tehát, hogy az embereknek megvan az az egyedülálló képessége, hogy kognitív módon felülírják belső biológiai órájukat és annak ritmikus kimeneteit. Ha az alvás-ébrenlét ciklus fázison kívül van a cirkadián óra által szabályozott ritmusokkal (például műszakban végzett munka vagy gyors időzónák közötti utazás), káros hatások léphetnek fel (6).

Kiemelkedő emberi cirkadián ritmusokat számos viselkedésben rögzítettek, beleértve az alvási hajlamot, az éberséget, az éberség és a teljesítmény kapcsolatát. Úgy találták, hogy ezek a ritmusok közel 24 órás perióduson át fennmaradnak még akkor is, ha az emberi alanyok védve vannak a környezet hétköznapi nappali/éjszakai ciklusaitól. A cirkadián fázis eltolódása a teljesítmény romlásához és az alvászavarokhoz vezethet, mivel mind az alvási képesség, mind az alvás időzítése és belső szerveződése a cirkadián fázissal van összefüggésben. Húsz évvel ezelőtt felismerték, hogy a specifikus neuroanatómiai struktúrák mind az endogén cirkadián ritmusok generálására, mind pedig a 24 órás naphoz való szinkronizálására vonatkoznak (7). Számos tanulmányban összefüggő bizonyítékok azt mutatják, hogy a cirkadián ritmuszavar kulcsszerepet játszik a bipoláris zavar (BD) etiológiájában és lefolyásában. A belső és külső folyamatok koordinációjának hiánya hozzájárul a cirkadián ritmus megzavarásához, ami viszont bipoláris betegséghez vezethet. A kutatások számos jelzöt találtak a hibás cirkadián ritmusra a BD bemutatásában. A bipoláris betegeknek a szabálytalan cirkadián ritmusról úgy gondolják, hogy hozzájárul a mánia és a depresszió epizódjaihoz. Ezeknek az epizódoknak az egyik vezető magyarázata a melatonin hormon övezi, amely segít fenntartani az alvási/ébrenlét ciklust azáltal, hogy információt szolgáltat a környezet fényéről. A melatonin a tobozmirigyből szabadul fel, amelyet a nucleus suprachiasmaticus koordinál, és így feltételezhetően kiemelkedő szerepe van a cirkadián rendszer szabályozásában (18).

Összefoglalás

Az alábbi összefoglaló munka alapján is jól látható, a hogy a cirkadián ritmus kutatása kezd egyre közelebb kerülni ahhoz, hogy megértsük a ritmusok hogyan tartják fenn az egészséget. A genomra kiterjedő transzkriptom, metabolom és proteom vizsgálatok nagymértékben hozzásegítettek a cirkadián szabályozás még pontosabb megértéséhez.

A cirkadián ritmusok olyan biológiai folyamatok, amelyek 24 órán belül mennek végbe, és amelyeket közvetlenül vagy közvetve a cirkadián órák irányítanak. Az állatok cirkadián órái szinte minden sejtben jelen vannak, és közel egy tucat transzkripciós szabályozó elem alapulnak, amelyek negatív visszacsatolási hurkon keresztül kölcsönhatásba lépnek egymással. További mechanizmusok kapcsolják be ezeket a cirkadián órákat a környezeti fényhez és az étkezési időhöz igazodva, hogy lehetővé tegyék az állatok számára a naphosszúság és a táplálék elérhetőségének szezonális változásaihoz való alkalmazkodást (12). Ezek a ritmusok az emberi alvási/ébrenlét ciklusoktól a növények leveleinek mozgásáig terjednek. Ezeknek a belsőleg vezérelt ritmusoknak a ciklikussága és pontossága a matematikusok és a biológusok

érdeklődését egyaránt felkeltette. Mégis annak ellenére, hogy évtizedek óta ugyanazon a kérdésen dolgozott, a legtöbb cirkadián molekuláris biológus nem tette magáévá a matematikai modellezést korábban. Napjainkra azonban már egyre inkább népszerű a biológusok körében is a matematikai modellek felhasználása, ahhoz, hogy a bonyolult, több visszacsatolási hurokkal is rendelkező biológiai rendszereket leírjanak. Ezekhez úgy kell kiválasztani a paramétereket, hogy a leginkább megfeleljenek a kísérleti adatoknak. Ez után szimulációkat futtathatunk, hogy ellenőrizzük megfelel-e a modell a kísérleti adatoknak (19).

Egy 2018-ban végzett plazmaproteom-felmérésben, ahol a normál (nappali aktív) és éjszakai műszakos munkarendben részt vevőket vizsgálták kiderült, hogy a plazmaproteomok közel fele a napszakhoz specifikus eltéréseket mutat. Még az egészséges felnőttek körében végzett rövid távú, szimulált műszakos munka is befolyásolta a fehérjék mennyiségének általános szintjét vagy a transzkripció időzítését. Ezeknek a fehérjéknek a funkcionális annotációja feltárta a rákkal, az immunfunkcióval és az anyagcserével kapcsolatos utak gazdagodását. Egy egészséges felnőttek körében végzett kiegészítő, szimulált éjszakai műszakos vizsgálat a glükóz, a szabad zsírsavak és a trigliceridek szérumszintjének megváltozását is kimutatta (12).

Ezen említett kutatások is rámutatnak, hogy az éjszakai műszak vagy a hízlaló étrend fogyasztása megzavarhatja a normális cirkadián ritmust, és növelheti számos krónikus betegség kockázatát, beleértve az elhízást, a 2-es típusú cukorbetegséget, a szív- és érrendszeri betegségeket, a gyomor-bélrendszeri betegségeket, a hangulati rendellenességeket, a rákot és a demenciát. A modern emberi társadalmakban a krónikus betegségek előfordulásának rohamos növekedése az elmúlt 30 évben párhuzamos a cirkadián zavarok tömeges megjelenésével. Ezért egyre sürgetőbb megérteni a cirkadián szabályozás molekuláris alapját, és azt, hogy a cirkadián zavarok hogyan növelik a betegségek kockázatát. A cikkben korábban említett orvosbiológiai kutatások új reményt adnak a kronoterápia jövőbeni humán klinikai vizsgálatokban történő alkalmazására vonatkozóan. Ennek a tudásnak a felhasználása a cirkadián óra robusztusságának javítására az időkorlátozott étkezéssel, a gyógyszeradagolás időzítésével és az óra gyógyszeres kezelésével, készen áll arra, hogy a cirkadián ritmusok új ágát hozza el az orvostudománynak, a cirkadián orvoslás területét (12).

Irodalomjegyzék

BROWN Steven A, SCHIBLER Ueli :The ins and outs of circadian timekeeping. *Elsevier Science* 9.no. 5.1999 588-594. [https://doi.org/10.1016/S0959-437X\(99\)00009-X](https://doi.org/10.1016/S0959-437X(99)00009-X)Get rights and content

CZEISLER Charles A., CHIASERA August J., DUFFY Jeanne F.: Research on sleep, circadian rhythms and aging: applications to manned spaceflight. *Experimental Gerontology* 26. no. 2-3. 1991 217-23.

DVORNYK Volodymyr, VINOGRADOVA Oxana, NEVO Eviatar: Origin and evolution of circadian clock genes in prokaryotes. *PNAS* 100. no.5. 2003 2495-2500.

<https://doi.org/10.1073/pnas.0130099100>

FORGER Daniel, DRAPEAU Mark, COLLINS Ben, BLAU Justin: A new model for circadian clock research? *Molecular Systems Biology* 1:2005:0014 1-2 .[10.1038/msb4100019](https://doi.org/10.1038/msb4100019)

GOLD Alexandra K., KINRYS Gustavo: Treating Circadian Rhythm Disruption in Bipolar Disorder. *Curr Psychiatry Rep.* 21. no. 3. 2020 1-14. [10.1007/s11920-019-1001-8](https://doi.org/10.1007/s11920-019-1001-8)

HUANG Rong-Chi.: The discoveries of molecular mechanisms for the circadian rhythm: The 2017 Nobel Prize in Physiology or Medicine. *Biomedical Journal* 41. no. 1. 2018 5-8.

<https://doi.org/10.1016/j.bj.2018.02.003>

KALMUS H.: The History and Philosophy of Chronobiology. *J. interdiscipl. Cycle Res.* 19. no. 4. 1988 227-234. <https://doi.org/10.1080/09291018809359981>

KOLKER D. E., TUREK F. W.: The search for circadian clock and sleep genes. *Journal of Psychopharmacology* 13. no. 4. 1999 S5-S9. <https://doi.org/10.1177/026988119901304S02>

KONOPKA Ronald J., BENZER Seymour: Clock Mutants of *Drosophila melanogaster*. *Proc. Nat. Acad. Sci.* : 68. no. 9. 1971 2112-2116.

<https://doi.org/10.1073/pnas.68.9.2112>

LOUDON Andrew S.I., SEMIKHODSKII Andrei G., CROSTHWAITE Susan K.: A brief history of circadian time. *Trends in Genetics* 16.no. 11. 2000 477-481.

[https://doi.org/10.1016/S0168-9525\(00\)02122-3](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(00)02122-3)

NEUBAJLER C Aljoscha: Psychometric comparison of two circadian rhythm questionnaires and their relationship with personality *Person. individ. DtfI.* 13. no. 2. 1992 125–131.

[https://doi.org/10.1016/0191-8869\(92\)90035-N](https://doi.org/10.1016/0191-8869(92)90035-N)

MCCLUNG Robertson C.: Beyond Arabidopsis: The circadian clock in non-model plant species. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 24. no. 5. 2013 430-436.

<https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2013.02.007>

PANDA Satchidananda: The arrival of circadian medicine. *Nature Reviews / Endocrinology* 15. no.2. 2019 67-69. [10.1038/s41574-018-0142-x](https://doi.org/10.1038/s41574-018-0142-x)

PANDA Satchidananda, HOGENESCH John B., KAY Steve A.: Circadian rhythms from flies to humans. *Nature* . 417. no. 6886. 2002 329-35. [10.1038/417329a](https://doi.org/10.1038/417329a)

PROSSER Rebecca A., MILLER Joseph D., HELLER H. Craig: A serotonin agonist phase-shifts the circadian clock in the suprachiasmatic nuclei in vitro. *Brain Research.* 534. 1990 336-339.

RALPH Martin R., MENAKER Michael: A Mutation of the Circadian System in Golden Hamsters. *Science* 241. no. 4870. 1988 1225-1227. DOI: [10.1126/science.3413487](https://doi.org/10.1126/science.3413487)

ROENNEBERG Till, KUEHNLE Tim, JUDA Myriam, KANTERMANN Thomas, ALLEBRANDT Karla, GORDIJN Marijke, MERROW Martha: Epidemiology of the human circadian clock. *Sleep Medicine Reviews* 11 .no. 6. 2007 429-38. [10.1016/j.smrv.2007.07.005](https://doi.org/10.1016/j.smrv.2007.07.005)

ROSBASH Michael: The Implications of Multiple Circadian Clock Origins. *PLOS Biology* 7. no. 3. 2009 0421-0425. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000062>

VANSTEENSEL Mariska J., STEPHAN Michel, MEIJER Johanna H.: Organization of cell and tissue circadian pacemakers: A comparison among species. *BRAIN RESEARCH REVIEWS* 58. no. 1. 2008 18-47. [10.1016/j.brainresrev.2007.10.009](https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2007.10.009)

VITATERNA Martha Hotz, TAKAHASHI Joseph S., TUREK Fred W.: Overview of Circadian Rhythms. *Alcohol Research & Health* 25. no. 2. 2001 85–93.