

Received: 2012.08.09
Accepted: 2013.03.21
Published: 2013.06.20

Znaczenie zegara biologicznego w utrzymaniu homeostazy glukozy

The role of biological clock in glucose homeostasis

Piotr Chrościcki, Michał Usarek, Jadwiga Bryla

Zakład Regulacji Metabolizmu, Instytut Biochemii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

Streszczenie

Mechanizm działania zegara biologicznego polega na rytmicznej ekspresji genów zegarowych, regulujących aktywację wybranych składników genomu. Dzięki transkrypcyjno-translacyjnym powiązaniom dochodzi do endogennego rytmu syntezy białek, limitujących przebieg różnych procesów fizjologicznych i metabolicznych. Szczególnie ważne jest utrzymanie homeostazy glukozy – głównego źródła energii dla mózgu, erytrocytów, siatkówki oka i mięśni szkieletowych. Centralny zegar biologiczny, zlokalizowany w jądrze nadskrzyżowaniowym (SCN), jest istotny nie tylko do wyznaczania okresów snu i czuwania, lecz również regulowania wielu dróg metabolicznych, a dostępność określonych metabolitów może kontrolować jego aktywność. Sugeruje się również istnienie w mózgu drugiego ośrodka oscylacyjnego lub ośrodków indukowanych przez pokarm (FEO), aktywujących poszukiwanie pokarmu i sekrecję hormonów kontrolujących proces trawienia. Ponadto, większość komórek i tkanek ma własne, autonomiczne zegary peryferyczne. Procesy syntezy i wykorzystywania glukozy są zsynchronizowane w czasie. Zegar biologiczny wpływa na syntezę glukozy w wątrobie, jej pobieranie przez różne tkanki oraz wskaźnik tolerancji na ten metabolit, określany na podstawie indukowanej przez posiłek odpowiedzi organizmu na insulinę. Podwzgórzowe neurony oreksynergiczne kontrolują równowagę energetyczną organizmu i modulują syntezę glukozy oraz jej wykorzystywanie. Natomiast niedobór oreksyny powoduje występowanie narkolepsji oraz przybieranie na wadze. Działając zwrotnie – glukoza i aminokwasy wpływają na aktywność komórek zawierających ten neuroprzekaźnik. Zaburzenie działania genów zegarowych powoduje rozregulowanie oddziaływania między metabolizmem a rytмами okołodobowymi zegarów peryferycznych na poziomie neuronalnym, molekularnym i komórkowym. Badania genetyczne na gryzoniach i ludziach dostarczyły dowodów, że zakłócenie rytmów ekspresji genów zegarowych, np. u pracowników zmianowych, powoduje występowanie chorób cywilizacyjnych: otyłości oraz cukrzycy typu 2. Panujący obecnie styl życia nowoczesnych społeczeństw w znaczący sposób zakłóca funkcjonowanie zegara biologicznego.

Słowa kluczowe: zegar biologiczny • geny zegarowe • glukoza • homeostaza • metabolizm • oreksyna • pokarm

Summary

The mechanism of the biological clock is based on a rhythmic expression of clock genes and clock-controlled genes. As a result of their transcripto-translational associations, endogenous rhythms in the synthesis of key proteins of various physiological and metabolic processes are created. The major timekeeping mechanism for these rhythms exists in the central nervous system. The master circadian clock, localized in suprachiasmatic nucleus (SCN), regulates multiple metabolic pathways, while feeding behavior and metabolite availability can in turn regulate the circadian clock. It is also suggested that in the brain there is a food entrainable oscillator (FEO) or oscillators, resulting in activation of both food anticipatory activity and

	hormone secretion that control digestion processes. Moreover, most cells and tissues express autonomous clocks. Maintenance of the glucose homeostasis is particularly important for the proper function of the body, as this sugar is the main source of energy for the brain, retina, erythrocytes and skeletal muscles. Thus, glucose production and utilization are synchronized in time. The hypothalamic excited orexin neurons control energy balance of organism and modulate the glucose production and utilization. Deficiency of orexin action results in narcolepsy and weight gain, whereas glucose and amino acids can affect activity of the orexin cells. Large-scale genetic studies in rodents and humans provide evidence for the involvement of disrupted clock gene expression rhythms in the pathogenesis of obesity and type 2 diabetes. In general, the current lifestyle of the developed modern societies disturbs the action of biological clock.
Keywords:	biological clock • clock genes • food • glucose • homeostasis • metabolism • orexin
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1053906
Word count:	7008
Tables:	–
Figures:	4
References:	85

Adres autorki: prof. dr hab. Jadwiga Bryła, Zakład Regulacji Metabolizmu, Wydział Biologii UW, ul. I. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa; e-mail: bryla@biol.uw.edu.pl

Wykaz skrótów: **ACTH** – hormon adrenokortykotropowy; **AHA** – przedni rejon podwzgórza; **AKT** – kinaza białkowa B; **AMPK** – kinaza aktywowana przez AMP; **ANS** – autonomiczny układ nerwowy; **ARC** – jądro łukowate podwzgórza; **AVP** – wazopresyna argininowa; **Ccg** – geny kontrolowane przez zegar; **CKIε** – izoforma kinazy kazeinowej; **cFOS** – marker aktywacji neuronów; **CREB** – czynnik transkrypcyjny aktywowany przez cAMP; **CRH** – hormon uwalniający kortykotropinę; **CRY** – białka zaliczane do rodziny kryptochromu; **DMH** – jądro grzbietowo-przyśrodkowe podwzgórza; **FAA** – aktywność poprzedzająca przyjmowanie pokarmu; **FEO** – oscylator indukowany przez pokarm; **GABA** – kwas γ-aminomasłowy; **HPA** – oś podwzgórze – przysadka – nadnercza; **LHA** – rejon boczny podwzgórza; **MAPK** – kinaza białkowa aktywowana przez mitogeny; **MCH** – hormon zagęszczający melanine; **NAMPT** – fosforybozylotransferaza nikotynamidowa; **NPY** – neuropeptyd Y; **OX1R** i **OX2R** – receptory wiążące oreksynę odpowiednio A i B; **PDK-1** – kinaza białkowa-1 zależna od 3-fosfatydiloinozytolu; **PER** – białka Period; **PF** – rejon okołosklepieniowy podwzgórza; **POMC** – proopiomelanokortyna; **PVN** – jądro przykomorowe podwzgórza; **RGCs** – komórki zwojowe siatkówki; **RHT** – szlak siatkówka podwzgórze; **SCN** – jądro nadskrzyżowaniowe; **SIRT1** – sirtuina 1; **VIP** – naczyniowy polipeptyd jelitowy; **VMH** – brzuszno-przyśrodkowe jądro podwzgórza.

WPROWADZENIE

Przez wiele milionów lat życie na Ziemi kształtowało się wśród cyklicznych dobowych i okołorocznych zmian warunków środowiska, wynikających z obrotowego i obiegowego ruchu naszej planety. Organizmy podlegały więc adaptacji do oscylacyjnego rytmu natury. Ewolucja selekcjonowała rozwiązania, w których organizm potrafił dostosować swoją fizjologię do dynamiki warunków otaczającego go świata. U zwierząt funkcje te pełni zegar biologiczny. Ma on na celu przygotować organizm do zadań, które zazwyczaj występują w ciągu dnia, poprzez wpływanie na takie elementy fizjologiczne i behawioralne jak: aktywność dobową, rytm pracy serca, sekrecja hormonów, temperatura ciała i praca układu pokarmowego [2]. Istnienie zegara biologicznego umożliwia również rozdział

czasowy przeciwnych procesów metabolicznych, np. glikogenezę i glukoneogenezę [32].

Przez bardzo długi okres struktura oraz mechanizm działania endogennego zegara był nieznany. Niewątpliwie przyczyną tego stanu było to, że struktury i funkcjonowanie zegarów biologicznych bardzo różnią się między poszczególnymi grupami taksonomicznymi zwierząt. Przełomem w badaniach chronobiologicznych okazało się odkrycie genów zegarowych u *Drosophila melanogaster* [5], a później u myszy [77], umożliwiające poznanie podstaw tego mechanizmu. Bodźcem wpływającym na wytworzenie okołodobowego rytmu dla zegara jest światło, będące tzw. dawcą czasu (z niem.: Zeitgeber). Ze względu na swoją cykliczność, dostępność światła jest najbardziej

odpowiednim parametrem geofizycznym do wyznaczania czasu. Na tej podstawie zwierzęta mogą się przystosować do nadchodzących zmian warunków środowiska, np. zmiany temperatury i dostępności pożywienia w ciągu doby, a nawet w cyklu rocznym na podstawie zmiany stosunku długości dnia do nocy.

Podstawą działania zegara biologicznego są geny zegarowe, których ekspresja w komórkach nadaje im rytm niezależny od czynników zewnętrznych. Istnienie takich oscylatorów udokumentowano m.in. w wątrobie, jelitach, sercu i siatkówce [52]. Jednak do sprawnego funkcjonowania całego organizmu niezbędny jest element koordynujący wszystkie narządy, którego funkcję pełni centralny zegar biologiczny, zlokalizowany w przedniej części podwzgórza, w jądrze nadskrzyżowaniowym (SCN – suprachiasmatic nucleus), zawierającym 10 000–15 000 neuronów [56]. Umieszczenie tego ośrodka nad skrzyżowaniem nerwów wzrokowych umożliwia odbieranie sygnałów z siatkówki o długości dnia i nocy oraz synchronizację procesów wewnętrznych do aktualnej pory dnia. Tym samym światło pełni rolę najważniejszego regulatora pracy SCN [51]. Innymi bodźcami dla tego ośrodka jest pokarm i aktywność fizyczna, które w czasie ewolucji człowieka były ze sobą ściśle powiązane. Niestety, rozwijająca się cywilizacja sprawia, że ludzie coraz dłużej zostają aktywni w ciągu nocy, a krócej w dzień. Za sprawą nocnych zmian, dyżurów, a nawet imprez rozrywkowych, zakłócona zostaje ekspozycja człowieka na światło słoneczne oraz nawyki żywieniowe. W konsekwencji upośledzeniu ulega naturalny rytm okołodobowy, co objawia się depresją, zaburzeniami snu i wielu procesów metabolicznych. Szczególnie niebezpieczne dla zdrowia człowieka jest zakłócenie homeostazy glukozy, które według wielu badaczy może prowadzić do rozwoju syndromu metabolicznego. Z tego powodu istotne jest określenie roli zegara biologicznego i pokarmu w utrzymaniu prawidłowej homeostazy glukozy u ssaków.

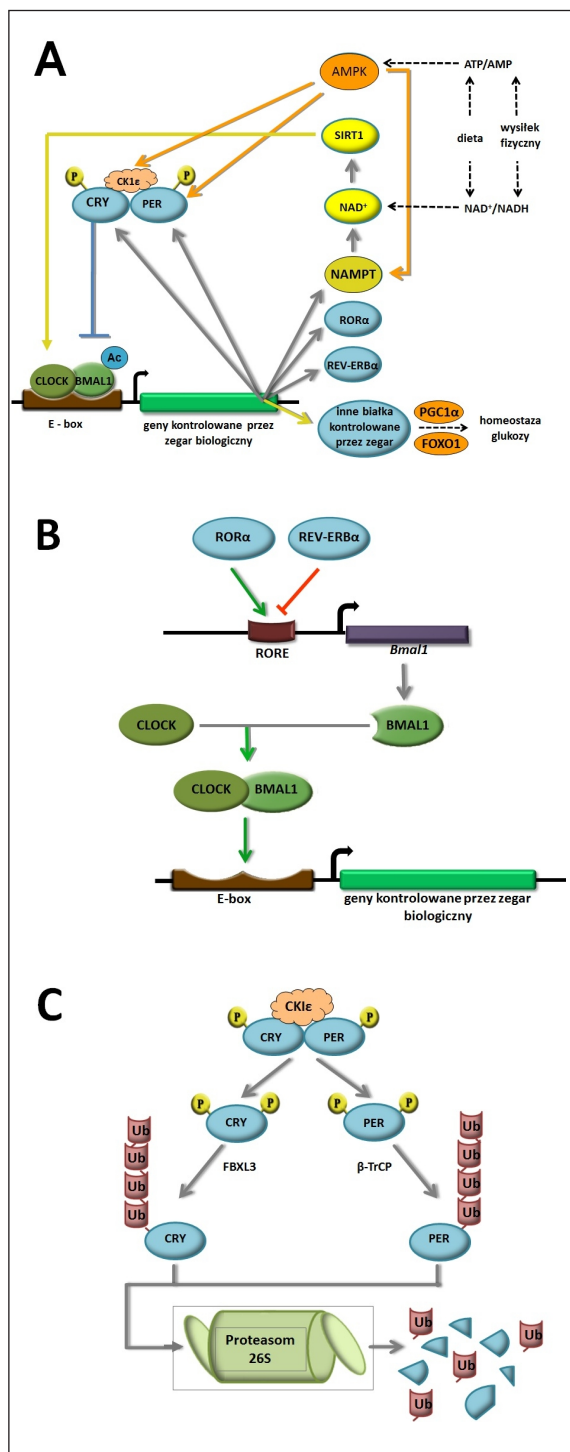
MOLEKULARNE PODSTAWY KOMÓRKOWYCH OSCYLACJI

W organizmie ssaków odmierzenie czasu zachodzi w prawie każdej komórce ciała z udziałem tzw. „peryferycznych zegarów”, które regulują ekspresję genów swoistych dla określonej tkanki. Podstawą działania endogennego oscylatora na poziomie komórkowym jest rytmiczna ekspresja genów zegarowych. Kodowane przez nie białka pełnią ważne funkcje w różnych procesach metabolicznych. Mogą brać udział np. w procesie biosyntezy, inicjacji translacji, fałdowania białek, ich transportu lub modyfikacji innych białek. Okołodobowa synteza białek zależnych od zegara biologicznego prowadzi do uruchomienia, hamowania, bądź zwiększenia aktywności poszczególnych szlaków, których efekt jest korzystny o określonej porze dnia [68]. Cykliczność wymienionych procesów wymaga molekularnego mechanizmu wzajemnie sprzężonej transkrypcji genów zegarowych. Niektóre z kodowanych przez nie białek po nagromadzeniu się hamują proces powstawania własnego mRNA w sposób oscylacyjny. Ich autoregulacyjna funkcja tworzy rozbudowaną sieć sprzę-

żeń zwrotnych, której pełny obrót trwa około 24 godzin. Znaczenie zegara biologicznego dla organizacji życia na Ziemi podkreśla to, że liczba oscylacyjnie powstających transkryptów w każdej komórce jest znacząca – około 10% transkryptomu. Jest interesujące, że większość białek oscylujących w jednej tkance, nie oscyluje w innej [45]. Niemniej jednak, niektóre geny zegarowe, które są odpowiedzialne za regulację rytmu dobowego są uniwersalne i ulegają ekspresji zarówno w neuronach SCN, jak i komórkach tkanek peryferycznych [60]. Należą do nich geny: *Clock*, *Bmal1*, *Per1*, *Per2*, *Per3*, *Cry 1* i *Cry 2*.

Cechą charakterystyczną jest regulacja zegara okołodobowego przez sprzężenie zwrotne [56]. Pozytywne regulatory indukują transkrypcję genów kontrolowanych przez zegar (*Ccg*; clock-controlled genes), spośród których niektóre kodują białka działające na ich własną ekspresję, wskutek represji wywoływanej przez pozytywne regulatory. U ssaków białka CLOCK i BMAL1 są pozytywnymi regulatorami, kontrolującymi ekspresję negatywnych regulatorów: białek zaliczanych do rodziny kryptochromu (CRY) oraz tzw. białek Period (PER). Jak przedstawiono na ryc. 1A, główną rolę w omawianym mechanizmie pełnią produkty genów *Clock* i *Bmal1*, odpowiedzialne za aktywację transkrypcji innych genów zegarowych przez wiązanie się z sekwencją 5'-CACGTG-3' DNA zwaną E-box [77]. Białka CLOCK i BMAL1 tworzą heterodimeryczną cząsteczkę, pełniącą funkcję inicjacji procesu ekspresji m.in. genów *Per* i *Cry*, których produktami są negatywne regulatory. Powstające w cytoplazmie białka Period (PER1, PER2 i PER3) oraz kryptochromy (CRY1 i CRY2) gromadzą się, migrują do jądra, tworzą heterodimery i blokują aktywność transkrypcyjną kompleksu CLOCK-BMAL1, hamując transkrypcję własnych genów. Białka PER są wiązane przez kilka receptorów jądrowych [61]. Stabilność kompleksu represorowego PER-CRY jest ściśle kontrolowana przez białkową kinazę kazeinową – CKIε oraz różne dla PER i CRY ligazy ubikwitynowe (β -TrCP1 i FBXL3) [10]. Proces ten służy utrzymaniu cykliczności ekspresji genów zegarowych. Ufosforylowany kompleks represorowy PER-CRY ulega degradacji z udziałem ubikwityny i proteasomu 26S, a kompleks CLOCK-BMAL1 może aktywować nowy cykl transkrypcyjny. Główne geny zegarowe (takie jak: *Clock*, *Bmal1*, *Per* i *Cry*) są konieczne w celu wytwarzania rytmów okołodobowych, podczas gdy *Ccg*, takie jak: *Nampt* (kodujący ekspresję transferazy fosforbozylo-nikotynamidowej, podstawowego enzymu biosyntezy NAD⁺) oraz *Alas1* (kodujący ekspresję syntazy aminolewulinianowej, istotnego enzymu w biosyntezie hemu) są kontrolowane przez główne geny zegara [29].

Oddziaływanie białek PER z różnymi receptorami jądrowymi nie tylko wpływa na aktywność określonych szlaków metabolicznych (np. metabolizm lipidów i glukozy), ale również moduluje ekspresję głównych genów zegara, które są konieczne do generowania i utrzymania rytmów okołodobowych. Na podstawie tych obserwacji można wnioskować, że zegar okołodobowy reguluje metabolizm, a zaburzenia rytmów okołodobowych są ujawniane przez różne choroby metaboliczne [56].



Ryc. 1. Schemat działania zegara biologicznego. Funkcjonowanie zegara biologicznego polega na rytmicznej ekspresji genów zegarowych pełniących ważne funkcje w organizmie. A. Poprzez sprzężenie zwrotne produkty ekspresji genów zegarowych modulują pracę endogennego oscylatora. U ssaków wyróżnia się główną pętlę ujemnego sprzężenia zwrotnego, którą stanowią czynniki transkrypcyjne CLOCK i BMAL1, umożliwiające transkrypcję genów *Cry* i *Per*. W rezultacie białka CRY i PER dimeryzują, wnikają do jądra komórkowego, gdzie oddziałują z kompleksem CLOCK-BMAL1, hamując swoją własną transkrypcję. W wyniku fosforylacji kompleks PER-CRY rozpada się, a jego składniki ulegają degradacji, umożliwiając kompleksowi CLOCK-BMAL1 wznowienie nowego cyklu. B. Elementem regulacyjnym kolejnej pętli ujemnego sprzężenia zwrotnego jest białko REV-ERBA. Ekspresję genu *Rev-erba* indukuje kompleks CLOCK-BMAL1. Z kolei białko REV-ERBA hamuje ekspresję BMAL1 poprzez wiązanie się z sekwencją RORE, którą musi rywalizować z częścią ROR, będącą aktywatorem transkrypcji. W uzupełnieniu aktywatorów i represorów transkrypcji, potranslacyjne modyfikacje i degradacja białek zegarowych stanowią ważne elementy dla zjawiska okresowości. C. W procesie degradacji białek PER i CRY główną rolę pełnią kinazy kazeinowe CK1ε (CSNK1D i CSNK1E). W wyniku fosforylacji części regulatorowych jest możliwa ich poliubikwitynacja z udziałem kompleksów ligaz poliubikwitynowych β-TrCP1 i FBXL3 i w konsekwencji ich degradacja w proteasomach 26 S (przygotowano na podstawie [30, 58, 70])

acetylacji histonów. Aktywność tego enzymu wykazuje zmiany oscylacyjne skorelowane z rytmicznymi dobowymi zmianami zawartości wewnątrzkomórkowego NAD⁺ [48]. SIRT1 moduluje rytmy okołodobowe za pośrednictwem deacetylowania histonu H3 i niehistonowych białek (BMAL1 i PER2).

Kompleks CLOCK-BMAL1 oddziałuje z SIRT1, w wyniku czego możliwy jest również jej udział w regulacji promotorów genów zegarowych. Co więcej, białko CLOCK wykazuje aktywność acetyltransferazy w odniesieniu do histonów jako substratów, co może świadczyć o tym, że rytmiczne remodelowanie chromatyny jest bardzo istotne dla funkcjonowania systemu transkrypcji białek zegarowych [16]. Po połączeniu się z E-box, białko CLOCK katalizuje reakcję acetylacji histonów H3 i H4 oraz białka BMAL1. W następstwie tej reakcji acetylowany czynnik transkrypcyjny jest rozpoznawany i łączy się z represyjnym kompleksem PER-CRY, w wyniku czego grupa acetylowa zostaje dołączona również do PER2 [28]. Przeprowadzane przez białko CLOCK modyfikacje mają na celu nadanie stabilności temu kompleksowi, którego utrzymanie oznacza zablokowanie transkrypcji. Represja utrzymuje się do czasu zmiany w komórce potencjału oksydoredukcyjnego, wyrażanego przez zaburzenie stanu równowagi między NAD⁺ i NADH. Wraz ze wzrostem utlenionej postaci NAD⁺ aktywacji ulega SIRT1. W wyniku jej działalności grupa acetylowa zostaje odłączona od histonów, BMAL1 i PER2, prowadząc do rozpadu kompleksu represyjnego [48]. Odłączone cząsteczki PER ulegają dalej fosforylacji przez CK1ε, co kieruje je na drogę degradacji i umożliwia wznowienie cyklu. SIRT1 deacetyluje również wiele białek metabolicznych, aktywując np. czynnik FOXO1, który reguluje ekspresję genów kodujących enzymy glukoneogenezy [21].

Przyłączenie dimeru CLOCK-BMAL1 do nici DNA możliwe jest tylko w obecności NADH i NADPH [53]. W tak skon-

Skuteczna kontrola metabolizmu w komórce przez zegar biologiczny wymaga istnienia mechanizmu określającego stan energetyczny komórki. Może to być osiągnięte przez oddziaływanie między sirtuiną 1 (SIRT1) i allosteryczną kinazą aktywowaną przez AMP (AMPK) a mechanizmem działania zegara [56]. SIRT1 jest zarówno zależną od NAD⁺ deacetylazą podstawowych białek szlaków metabolicznych jak i regulatorem ekspresji genów w wyniku de-

struowanym mechanizmie transkrypcyjnym, ekspresja genów zegarowych uzależniona jest od stanu metabolicznego komórki, czego wskaźnikiem jest stosunek stężeń utlenionej do zredukowanej formy dinukleotydu nikotynamidoadenylanowego. Podwyższona ilość NAD^+ świadczy o niedoborze substratów energetycznych, co skutkuje zniesieniem represji kompleksu CLOCK-BMAL1. W trakcie transkrypcji genów znajdujących się pod regulacyjnym wpływem wymienionego heterodimeru, ekspresji ulega również gen kodujący enzym fosforybozylotransferazę nikotynamidową (NAMPT – nicotinamide phosphoribosyltransferase), podstawowy enzym procesu odtwarzania NAD^+ . Aktywacja NAMPT podtrzymuje aktywność kompleksu CLOCK-BMAL1 i uniemożliwia jego odłączenie od miejsc E-box [48]. Co więcej, wewnątrzkomórkowa zawartość NAD^+ również podlega zmianom oscylacyjnym w wyniku kontrolowanej przez zegar ekspresji genu *Nampt* [48]. Brak hydrolazy NAD^+ CD38 u myszy zwiększa zawartość NAD^+ w wielu tkankach oraz skraca czas aktywności lokomotorycznej tych zwierząt, a także zawartość niektórych aminokwasów [55].

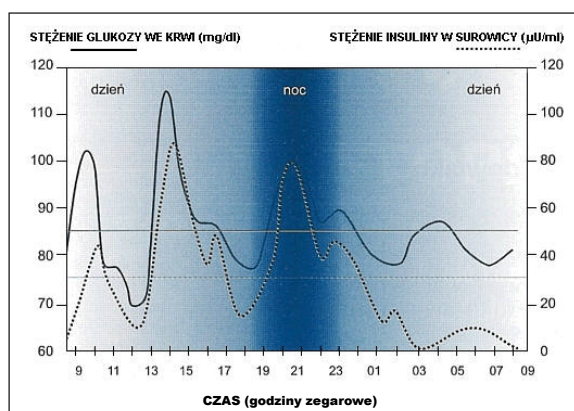
System regulujący transkrypcję genów związanych z „odmierzaniem czasu” przez komórki jest jeszcze bardziej skomplikowany. Do opisanych już procesów należy dodać wieloczynnikowy mechanizm kontroli ekspresji genu *Bmal1* [56]. Jak widać na ryc. 1B, korzystnie wpływają na ten proces np. receptory ROR (α , β i γ), a za wyłączenie jego ekspresji odpowiadają białka REV-ERB (α i β) oraz białka wiążące hem [80]. Wymienione czynniki są receptorami sierocymi i regulują ekspresję białka BMAL1, aby utrzymać jego odpowiednie stężenie w komórce. Współzawodniczą one o sekwencję RRE [(A/T)A(A/T) NT(A/G)GGTCA], znajdującą się w obszarze promotora genu *Bmal1*, utrzymując odpowiednie stężenie jego produktu, jak i całego kompleksu CLOCK-BMAL1 w komórce. W sytuacji, gdy liczba cząsteczek BMAL1 jest wystarczająca do utworzenia kompleksów z białkiem CLOCK, ekspresji ulega gen *Rev-erba*, którego produkt uniemożliwia transkrypcję genu *Bmal1* na zasadzie ujemnego sprzężenia zwrotnego. Gdy białka BMAL1 jest mało, jego ekspresję aktywuje receptor RORE.

Innym ważnym modulatorem rytmu dobowego, koordynującym przebieg określonych procesów komórkowych, jest stężenie AMP. Podwyższona zawartość tego związku również świadczy o deficycie energetycznym i wspomaga procesy służące do pozyskania substratów energetycznych. Aktywność AMPK wykazuje rytmiczne zmiany w wątrobie, podwzgórzu i fibroblastach embrionalnych myszy [75]. W wyniku aktywacji AMPK przez AMP jest możliwa m.in. fosforylacja kinazy kazeinowej CKI ϵ , co uaktywnia degradację białka PER2, jak i fosforylację białka CRY1 (por. ryc. 1A) [41]. Jak widać na ryc. 1C, fosforylacja przez AMPK białka CRY1 sprawia, że staje się ono miejscem działania ligaz ubikwitynowych, które prowadzą do degradacji białka CRY1 [41]. Jest interesujące, że aktywacja AMPK powoduje zwiększenie wewnątrzkomórkowej zawartości NAD^+ [12]. Ponieważ zarówno AMP, jak i NAD^+ gromadzą się w warunkach obniżonego wytwarzania energii, widoczna jest silna korelacja między aktywnością AMPK i SIRT1. Działalność AMPK w omawianym systemie regulacyjnym prowadzi do wytwarzania enzymu NAMPT, który z kolei powoduje wzrost stężenia NAD^+ i aktywności deacetylazy [12].

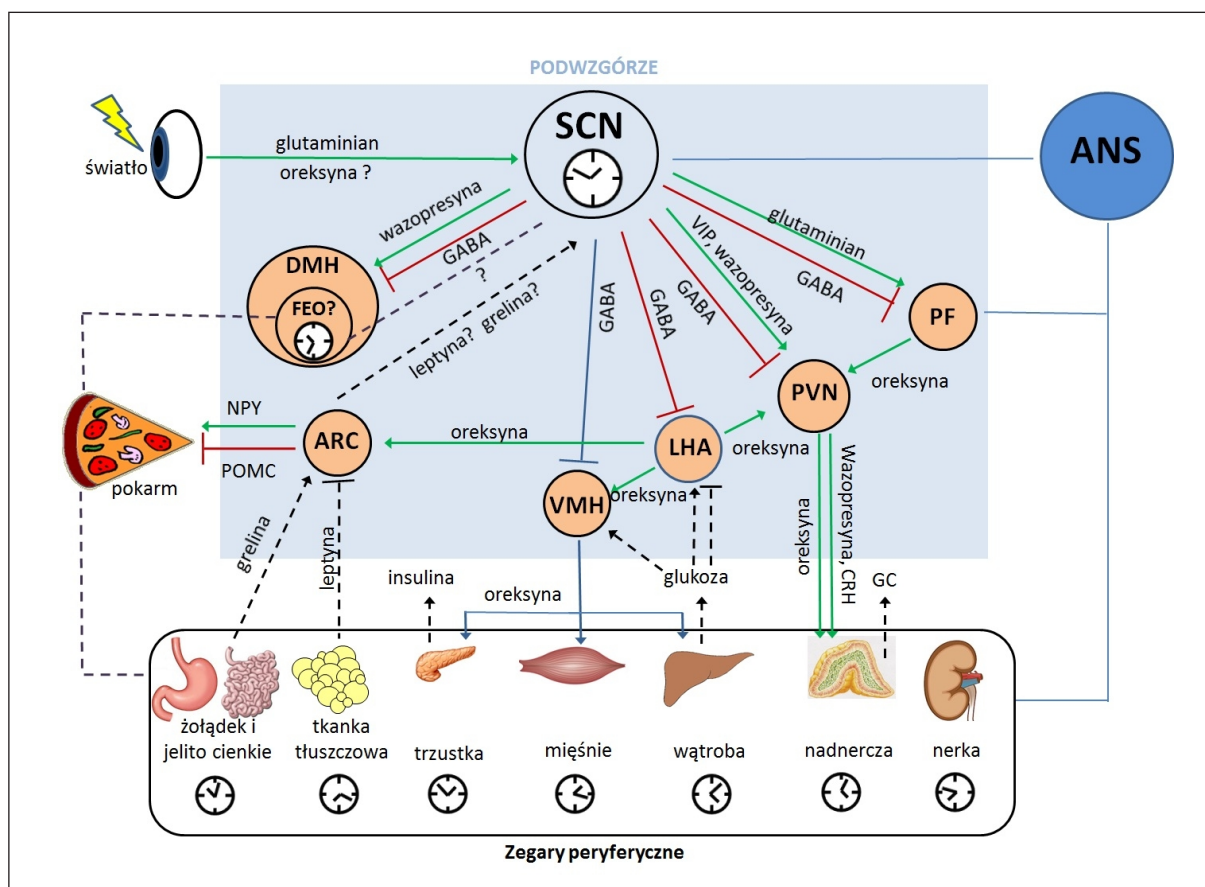
Na ekspresję genów zegarowych mają również wpływ czynniki zewnętrzne, których sygnalizacja objawia się wzrostem stężenia jonów Ca^{2+} i cAMP w komórce, powodując fosforylację białka CREB przez kinazę aktywowaną przez mitogeny (MAPK), w następstwie czego następuje uruchomienie transkrypcji genów *Per* i *Cry* [68].

DOBOWE WAHANIA STĘŻENIA GLUKOZY WE KRWI

Stężenie glukozy w osoczu to wartość wypadkowa między jej dostarczaniem do krwiobiegu oraz odpływem do wnętrza komórek. Cukier dostarczają głównie komórki jelit, które w wyniku trawienia pobierają go z treści pokarmowej oraz wątroba – największy magazyn i centrum syntezy, a także komórki kory nerek, które podobnie jak wątroba zawierają enzymy, umożliwiające wytwarzanie glukozy w procesie glukoneogenezy. Głównymi odbiorcami glukozy są mózg, mięśnie, erytrocyty, siatkówka oka oraz tkanka tłuszczowa. Ponieważ większość z wymienionych narządów ma różne zapotrzebowania energetyczne w ciągu doby, układ podaży i popytu na ten związek jest zmienny w czasie. W ciągu milionów lat ewolucji organizmy wyższych kręgowców wytworzyły wielorakie mechanizmy zabezpieczające je przed hiper- i hipoglikemią. Stężenie glukozy we krwi u zdrowego człowieka na czczo waha się w zakresie 70-99 mg/dL, jednak po posiłku dopuszcza się wzrost do wartości nieprzekraczających 140 mg/dL [83]. Okazuje się jednak, że nasz organizm nie tylko koryguje odchylenia zawartości glukozy we krwi od normy, ale również kontroluje występowanie cyklicznych zmian jej stężenia w czasie doby.



Ryc. 2. Dobowe zmiany stężenia glukozy i insuliny we krwi u człowieka. Linia ciągłą zaznaczono stężenie glukozy, a linią przerywaną stężenie insuliny. Ciemne tło wykresu wyznacza okres nocy, a jasne – dzień. Poposiłkowy wzrost stężeń glukozy obserwowany jest około godziny: 9.30, 14.00 i 20. W efekcie wydzielana zostaje insulina, która obniża stężenie glukozy w ciągu 2-3 godzin do stężenia charakterystycznego dla normoglikemii. Efektywność działania insuliny jest najwyższa rano i następnie maleje. Wzrost zawartości glukozy ok. godziny 4.00 nie powoduje znaczącej sekrecji insuliny (ryc. 1 z [42], za zgodą autorki oraz red. Bezpieczeństwo Pracy. Nauka i Praktyka)



Ryc. 3. Schemat indukowanej przez światło i pokarm regulacji oddziaływań między SCN, strukturami podwzgórza i zegarami peryferycznymi, uczestniczącymi w utrzymywaniu homeostazy glukozy. U ssaków najważniejszym stimulatorem rytmu okołodobowego jest światło słoneczne, które z udziałem receptorów siatkówki oraz szlaku podwzgórzowo-siatkówkowego zapewnia prawidłową częstotliwość oscylacji w SCN. Następnie neurony SCN w sposób rytmiczny pobudzają lub hamują inne rejony podwzgórza, odpowiedzialne za sen, lokomocję, sekrecję hormonów, pobieranie pokarmu i metabolizm. Również sygnały pochodzące z zegarów peryferycznych, będących czujnikami stanu sytości, aktywności ruchowej, zawartości tkanki tłuszczowej oraz stężenia glukozy, aminokwasów i innych składników pokarmowych, mogą regulować pracę SCN, utrzymując homeostazę glukozy. Szczegółowe objaśnienia znajdują się w tekście. Liniami zielonymi i czerwonymi oznaczono odpowiednio działania stymulujące i hamujące, koordynowane przez zegar centralny w SCN. Liniami niebieskimi przedstawiono efekty wywołane z udziałem autonomicznego układu nerwowego ANS. Natomiast czarne linie przerywane ilustrują przekazywanie sygnałów z ośrodków lub ośrodków indukowanych przez pokarm (FE0) oraz zegary peryferyczne (opracowano głównie na podstawie prac [7,34,66,75,48])

Jak widać na ryc. 2, u zdrowego i prawidłowo odżywiającego się człowieka stężenie glukozy w surowicy utrzymuje się na stałym poziomie. Co pewien czas dochodzi do spontanicznego wzrostu stężenia glukozy związanego ze spożyciem pokarmu. W ciągu 2-3 godzin jest on obniżany do około 80 mg/dL w wyniku działania insuliny. Przed południem obserwujemy jednak silniejsze działanie hormonu obniżające stężenie glukozy do 70 mg/dL. Na szczególną uwagę zasługuje dodatkowy szczyt zawartości cukru w surowicy, pojawiający się w godzinach wczesnoporannych, a więc niezwiązany z pobieraniem pokarmu. W dodatku nie indukuje on wydzielania insuliny [8]. Podwyższone stężenie glukozy nad ranem jest wynikiem wytwarzania endogennej glukozy, a ze względu na swoją odmienną postać nadekwalizowany fenomenem „świt”. Uważa się, że obserwowane zjawisko jest najprawdopodobniej wynikiem zwiększonej szybkości glukoneogenezy w wątrobie [32].

Zmierzono również dobowe zmiany stężenia glukozy w surowicy u szczura (*Rattus norvegicus*) i stwierdzono,

że u tych zwierząt występują analogiczne zależności, jak u ludzi. Stężenia cukru i insuliny rosną po spożyciu pokarmu, natomiast szczyt zawartości glukozy, niepowodujący odpowiedzi hormonalnej występuje w godzinach wieczornych. Dwunastogodzinne opóźnienie fenomenu „świt” tłumaczy się nocnym trybem życia szczurów. Jednak zarówno u gatunku nocnego, jak i dziennego zjawisko to występuje tuż przed okresem wzmożonej aktywności ruchowej. Uważa się, że proces ten jest kontrolowany przez zegar biologiczny i ma na celu przygotować organizm do wysiłku fizycznego [13].

ZNACZENIE ŚWIATŁA I POKARMU W REGULACJI WZAJEMNEGO ODDZIAŁYWANIA MIĘDZY SCN I ZEGARAMI PERYFERYCZNYMI

U ssaków najważniejszym stymulatorem rytmów okołodobowych jest światło słoneczne ze względu na jego silne oddziaływanie na pracę SCN. Jednak oscylacje zegarów peryferycznych regulowane są również przez inne rodzaje

bodźców (lub stymulacji). Co więcej, przepływ informacji z nadrzędnego oscylatora do zegarów obwodowych nie jest wyłącznie jednokierunkowy. Z tego powodu sygnały pochodzące z przewodu pokarmowego mogą wpływać np. na rytm snu i czuwania, który regulowany jest głównie przez SCN. Na ryc. 3 przedstawiono schemat indukowanych przez światło i pokarm mechanizmów wzajemnych oddziaływań między zegarem centralnym SCN i zegarami peryferycznymi. Informacja o natężeniu światła jest przesyłana z siatkówki do SCN za pośrednictwem szlaków: siatkówka-podwzgórze (RHT) oraz sygnałów z jądra szwu (raphe nucleus) [7]. RHT składa się z wrażliwych na światło monosynaptycznych glutaminianergicznych komórek zwojowych siatkówki (RGCs), w których zachodzi ekspresja genów *mRGCs*, kodujących melanopsynę, odpowiedzialną za włączanie lub zmianę rytmów okołodobowych. Bodźce świetlne z RGCs docierają do SCN, stymulując oscylacje genów zegarowych i aktywności neuronalne w SCN. W RGCs wykryto również obydwie izoformy oreksyny: A i B. A zatem, zakończenia aksonów tych komórek w SCN mogą uwalniać oreksyny i w ten sposób modulować aktywność neuronów SCN w wyniku aktywacji zlokalizowanych na nich receptorów wiążących ten neuroprzekaznik [43].

Głównymi peptydami uwalnianymi przez SCN w sposób cykliczny są: naczyniowy polipeptyd jelitowy (VIP) oraz wazopresyna argininowa (AVP). Inne neuropeptydy (np. neuromedyna S, będąca anoreksygennym sygnałem SCN) są uwalniane lokalnie przez zakończenia aksonów podobnie jak AVP w przykomorowym jądrze podwzgórza (PVN). GABA-ergiczne sygnały z SCN do neuronów PVN i jądra grzbietowo-przyśrodkowego podwzgórza (DMH) integrują informacje z peptydowymi sygnałami i przekazują je do obszarów mózgu odpowiedzialnych za różne funkcje kontrolowane przez rytmy okołodobowe. Inhibitorowe sygnały wychodzące z SCN działają na całe podwzgórze, wyjaśniając, dlaczego światło zwiększa aktywność komórek SCN *in vivo* i jednocześnie może zmniejszać aktywność neuronów w otaczających brzusznych, ogonowych i tylnych obszarach podwzgórza: przedniego rejonu podwzgórza (AHA), bocznego podwzgórza (LHA), brzuszno-środkowego jądra podwzgórza (VMH), DMH oraz PVN [6].

W organizmach charakteryzujących się dziennym trybem życia indukowane przez światło uwalnianie wazopresyny przez neurony SCN pobudza glutaminianergiczne neurony subPVN i DMH i w konsekwencji stymuluje neurony zawierające hormon uwalniający kortykotropinę (CRH) w PVN. Natomiast w organizmach o nocnym trybie życia ten sam sygnał pochodzący z centralnego zegara powoduje pobudzenie neuronów GABA-ergicznych w subPVN i DMH, co w efekcie hamuje neurony zawierające CRH w PVN [31]. SCN kontrolujeienne rytmy hormonalne w dwojaki sposób:

- działa na neuroendokrynne neurony motoryczne, wpływając na uwalnianie czynników podwzgórzowych oraz
- za pośrednictwem autonomicznego układu nerwowego (ANS) oddziałuje z określonymi tkankami peryferycznymi

lub organami, wpływając na ich wrażliwość na uwalniane w podwzgórzu hormony.

Dlatego też w celu utrzymania homeostazy organizmu, SCN powinien utrzymywać równowagę pomiędzy aktywnością układu współczulnego i przywspółczulnego w ciągu doby. Segregacja preautonomicznych neuronów, które odpowiadają za regulację tych dwóch przeciwstawnych układów zaczyna się już w obrębie SCN [31]. Aktywność ANS nie podlega jednak kontroli wyłącznie przez zegar biologiczny. Na jego aktywność ma również wpływ wiele innych czynników, w tym również stan emocjonalny. Co więcej, w samej strukturze mechanizmu zegarowego drogi pobudzania obydwo układów autonomicznych nie są identyczne. Neurony układu współczulnego i przywspółczulnego są hamowane przez pobudzane w SCN neurony GABA-ergiczne, podczas gdy neurony układu współczulnego są stymulowane przez pobudzane w SCN neurony glutaminianergiczne. Natomiast stymulacja neuronów układu przywspółczulnego następuje przez inny ośrodek – VMH, zwany również ośrodkiem sytości [34].

Kolejnymi ośrodkami podwzgórza, które otrzymują rytmiczne projekcje z SCN są rejony: LHA, zwany ośrodkiem głodu i okołosklepieniowy (PF). Oscylacyjny sygnał GABA-ergiczny blokuje w tych ośrodkach aktywność neuronów zawierających oreksynę – peptyd, który odpowiada za prawidłowy rytm snu i czuwania. Zaburzenia w syntezie i wydzielaniu tego związku obserwuje się bowiem u osób cierpiących na narkolepsję. Neurony oreksynergiczne tworzą bardzo dobrze rozwiniętą sieć penetrującą cały mózg z wyjątkiem mózdzka [82]. Szczególnie dużo oreksynergicznych zakończeń nerwowych znaleziono w PVN i jądrze łukowatym (ARC) podwzgórza [73]. ARC zawiera również neurony wykazujące ekspresję neuropeptydu Y (NPY), stymulujące pobieranie pokarmu oraz neurony charakteryzujące się ekspresją proopiomelanokortyny (POMC), które hamują ten proces. Wzrost pobierania pokarmu indukowany przez oreksynę może być przynajmniej częściowo skutkiem aktywacji neuronów zawierających NPY w ARC.

Za pośrednictwem neuronów układu współczulnego okołosklepieniowe neurony oreksynergiczne przekazują rytmiczne sygnały GABA- i glutaminianergiczne emitowane z SCN do wątroby, powodując zwiększenie syntezy glukozy u schyłku nocy, tj. w końcowym okresie snu i zapoczątkowując kolejny okres czuwania. Neurony oreksynergiczne LHA są wrażliwe na obecność glukozy. Przy braku tych neuronów myszy transgeniczne nie wykazują aktywności motorycznej i przebudzenia w warunkach głodu. Domózgowe podanie oreksyny aktywuje neurony w PVN i powoduje wzrost stężenia adrenokortykotropiny (ACTH) i kortykosteroidów w surowicy szczura [73]. Ponieważ efekty te nie występują po podaniu dootrzewnowym oreksyny, uważa się, że oreksyna aktywuje oś podwzgórze-przysadka-nadnercza (HPA) wyłącznie przez ośrodkowy układ nerwowy w wyniku wydzielania wazopresyny i CRH w PVN. Neurony oreksynergiczne potęgują ekspresję c-FOS, markera aktywacji neuronów m.in. w PVN i ARC,

tj. rejonach uczestniczących w regulacji układu autonomicznego i neuroendokrynnego [73]. Oreksyna może również wiązać się z receptorami w komórkach nadnerczy bez udziału osi HPA, powodując wydzielanie kortyzolu i aldosteronu bez wpływu na stężenie ACTH w surowicy. Ponadto, oreksyna z udziałem VMH i układu nerwowego współczulnego stymuluje nadnercza i pobieranie glukozy przez mięśnie [63]. Ogólnie rzecz ujmując, oreksyna ma szeroki zakres działania na regulację poziomu glukozy we krwi. Może ona za pośrednictwem ANS regulować funkcjonowanie tkanek związane z metabolizmem cukru, aktywować układy endokrynnie lub wiązać się bezpośrednio do receptorów na powierzchni tkanek obwodowych. Receptory dla oreksyny znaleziono w komórkach beta trzustki i jądrach [73].

Odkrycie peryferycznych oscylatorów doprowadziło do identyfikacji swoistych dla określonych tkanek genów, których szybkość transkrypcji zmienia się w czasie doby. Zegary występujące w organach układu trawiennego są wrażliwe na pojawianie się pokarmu, komunikują się z mózgiem za pośrednictwem sygnałów endokrynnych i nerwowych i mogłyby być źródłem sygnałów kierujących rytmem „wyprowadzającymi” spożywanie pokarmu. Usunięcie SCN znosi zjawisko rytmiczności większości procesów fizjologicznych, ale transplantacja SCN z jednego osobnika do drugiego powoduje zachowanie oscylacji dawcy u biorcy, wskazując na znaczącą rolę zegara centralnego. Zaskakujące jest jednak to, że mimo usunięcia SCN, są zachowane oscylacje behawioralne wyprowadzające spożywanie pokarmu, sugerując istnienie w mózgu drugiego ośrodka zawierającego oscylatory, charakteryzującego się rytmem okołodobowym w następstwie regularnie występujących posiłków. Te domniemane oscylatory indukowane przez pokarm (FEO) stanowią prawdopodobnie ośrodki niezależne od światła, aktywujące poszukiwanie pokarmu i powodujące jeszcze przed czasem posiłku syntezę i sekrecję hormonów niezbędnych do indukcji procesu trawienia [64].

Niewiele wiadomo o molekularnym mechanizmie działania zegara indukowanego przez pokarm oraz miejsc jego lokalizacji w centralnym i peryferycznym układzie nerwowym. Jedynie usuwanie jądra przyramiennego pnia mózgu i DMH zmniejszało u szczurów występowanie aktywności poprzedzającej przyjmowanie pokarmu (FAA). Ponadto, nerwy odprowadzające z SCN przebiegają w obszarze DMH sugerując, że ten rejon może być jednym z odpowiedzialnych za modulowanie przez SCN rytmów karmienia lub spożywania pokarmów [6,64]. Rejon DMH jest konieczny i wystarczający do indukcji wszystkich rytmicznych zachowań inicjowanych przez pokarm i wydaje się być przełącznikiem, hamującym pochodzące z SCN sygnały informujące o aktualnym zapotrzebowaniu metabolicznym organizmu.

Oddziaływanie między przewodem pokarmowym a mózgiem jest również możliwe z udziałem hormonów. Najlepiej udowodniona jest rola greliny, której stężenie w osoczu wzrasta gwałtownie 30 min przed posiłkiem w warunkach

ograniczonego w określonym czasie karmienia zwierząt, sugerując jej rolę w przekazywaniu sygnału o konieczności spożycia pokarmu [50]. Hormon ten jest wiązany w podwzgórzu nie tylko przez receptory w Arc, lecz również w rejonach: SCN, DMH, VMH i PVN, powodując aktywację cFOS w tych obszarach z wyjątkiem SCN [7,46]. Ponadto, cykliczne zmiany we krwi stężenia glukozy, składnika sygnałowego pochodzącego z pożywienia lub cyklicznie zmieniające się zawartości czynników centralnego i peryferycznego FEO, biorących udział w wytwarzaniu greliny i oreksyny mogą modulować aktywność VMH w czasie zapotrzebowania na pożywienie [6]. Jednak nie wydaje się, żeby grelina była jedynym hormonem w przekazywaniu rytmów indukowanych przez pożywienie z peryferycznego FEO. Rytmiczne uwalnianie leptyny przez adipocyty może również być istotne do przekazywania sygnałów pokarmowych do mózgu. Na przykład u ludzi największe stężenie leptyny występuje w nocy, powodując spadek apetytu, indukowany przez neurony podwzgórza. Ponieważ antagonisty receptorów wiążących oreksynę zmniejsza otyłość u myszy ob/ob (niesyntetyzujących leptyny), wydaje się, że przy braku leptyny następuje aktywacja zależnej od oreksyny drogi pobierania pokarmu. Chociaż mechanizmy kontrolujące rytmiczne uwalnianie leptyny i greliny z tkanek obwodowych nie są jeszcze wyjaśnione, wiadomo jednak, że ich działanie może modulować zegar SCN [29,46]. Glikokortykoidy, wytwarzane przez korę nadnerczy kontrolują szlaki adaptacyjne w wątrobie, tkance tłuszczowej i mięśniach szkieletowych podczas głodzenia – wiążą się do *Per2* oraz regulują ekspresję *Rev-erb α* i *Per 1* [50]. W przeciwieństwie do glikokortykoidów, grelina i leptyna mogą dostarczać informacji od odpowiadających na pokarm zegarów peryferycznych do zegara centralnego SCN [50]. Zaburzenia związane z wygaszeniem rytmów okołodobowych u ssaków z mutacjami w genach zegarowych sugerują wzajemne oddziaływanie między systemami metabolicznymi i zegarowymi, których zakłócenie może prowadzić do otyłości, chorób sercowo-naczyniowych i cukrzycy.

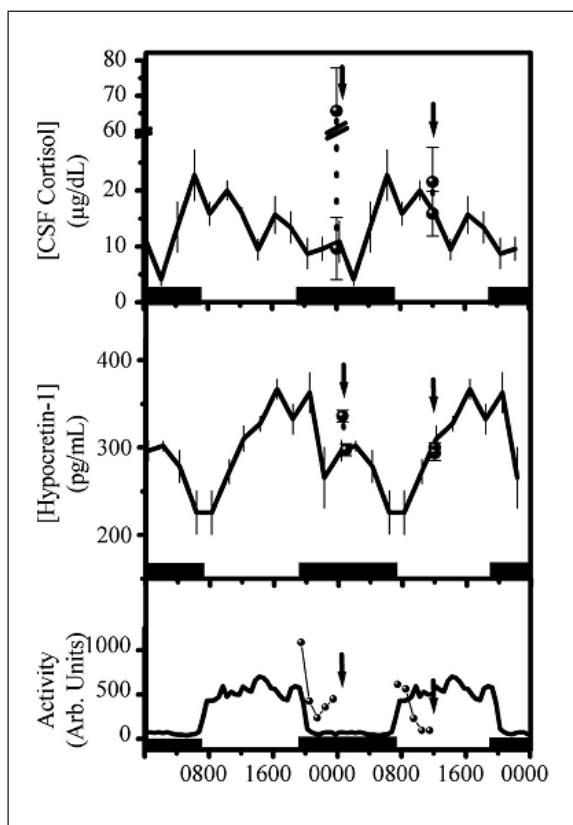
ROLA AUTONOMICZNEGO UKŁADU NERWOWEGO I OREKSYNY W REGULACJI HOMEOSTAZY GLUKOZY

Opisany wyżej mechanizm regulowania homeostazy glukozy przez zegar biologiczny wskazuje, że istnieje ścisła współpraca między układem hormonalnym i nerwowym. Zwraca uwagę odpowiednia sekrecja kortykosteroidów (inaczej glikokortykoidów), aby uzyskać pożądaną efekt glukozotropowy o właściwej porze dnia. Uwalnianie innych hormonów wywołujących podobny efekt, jak np. katecholamin i glukagonu następuje pod wpływem nieregularnych bodźców, a w przypadku hormonu wzrostu zależnie od wieku [37]. Dla porównania stężenie kortykosteroidów we krwi wykazuje wyraźny rytm okołodobowy ze szczytem na początku aktywnej części dnia. Dodatkowo ich wydzielanie wywołuje wzmożony transport wolnych aminokwasów do wnętrza hepatocytów oraz okresową insulinooporność komórek wątroby [62]. Ponadto, wydzielanie kortykosteronu wspomaga pobieranie glukozy przez mięśnie szkieletowe i adipocyty [19], co z punktu chronobiologii jest dla organizmu korzystne. Opisane za-

leżności skłaniają wielu naukowców do traktowania glikokortykoidów jako bezpośrednich sygnałów wysyłanych przez zegar biologiczny w celu utrzymania homeostazy glukozy. Dużym zaskoczeniem okazały się jednak wyniki doświadczenia, w którym zaobserwowano, że u ludzi zachodzi prawidłowy rytm zmian stężeń glukozy we krwi mimo zablokowania syntezy kortyzolu. Co więcej, szczury z pozbawioną unerwienia wątroby zachowują nienaruszony rytm zmian stężenia kortykosteronu, ale nie wykazują okołodobowych zmian glukozy w surowicy [11]. Brak odpowiedniego hormonalnego kandydata kontrolującego okołodobowy rytm glukozy we krwi sugerował, że jedyną drogą umożliwiającą 24-godzinny rytm podaży cukru jest autonomiczny układ nerwowy. Przypuszczenia te są zgodne z obserwacją, że komórki wątroby są bardzo licznie unerwione przez włókna współczulne i przywspółczulne, a odnerwienie tego organu ma znaczący wpływ na wytwarzanie glukozy [67,79]. Eksperyment z zastosowaniem elektrycznej stymulacji podwzgórza, potwierdził nadrzędną rolę ANS w kontroli gospodarki węglowodanowej przez zegar biologiczny [30].

Ze względu na ważną rolę oreksyny w regulacji rytmu okołodobowego w podwzgórzu oraz stymulacji aktywności neuronów autonomicznych wydaje się, że właśnie ten związek odpowiada za utrzymanie homeostazy glukozy. Na podstawie badań przeprowadzonych na małpach z gatunku *Saimiri sciureus*, które wykazują taką samą jak człowiek aktywność dobową, udowodniono, że w porównaniu z kortyzolem okołodobowy rytm wydzielania oreksyny w płynie mózgowo-rdzeniowym wykazuje wyższą korelację z ich aktywnością ruchową [84]. Jak widać na ryc. 4, minimalne stężenie oreksyny A utrzymuje się w okresie wybudzania, tj. między godziną 6 a 8. Następnie jej sekrecja wzrasta osiągając wartości maksymalne o godzinie 16 i 20. Nocą ilość oreksyny w sposób niejednostajny maleje, wykazując nieznaczne podwyższenie stężenia około północy, ale minimalną wartość osiąga o poranku. Okołodobowy rytm oreksyny oznacza, że zwierzęta pozostają aktywne tak długo, jak długo peptyd ten jest wydzielany i jego stężenie w płynie mózgowo-rdzeniowym rośnie. Sen jest natomiast wywołany przez zmniejszenie sekrecji oreksyny. Wyniki obserwacji potwierdza to, że sekrecja oreksyny w godzinach nocnych zostaje podtrzymana przez wymuszenie u zwierząt aktywności lokomotorycznej lub stres. W przypadku kortyzolu, jego stężenie w płynie mózgowo-rdzeniowym jest najwyższe około godziny 6 rano i w ciągu dnia maleje, osiągając spadek kolejno około godziny: 8, 14 i wartość minimalną o godzinie 2 w nocy. Wzrost stężenia hormonu występuje około godziny 10 i 16. Największa korelacja między zmianami kortyzolu, a zachowaniem małp występuje w nocy i tuż przy przebudzeniu. Jednak zmiany zachodzące w dalszej części dnia nie odpowiadają zmianom zachowania u tych zwierząt.

Działanie oreksyny A i B odbywa się za pośrednictwem dwóch rodzajów receptorów sprzężonych z białkami G (OX1R i OX2R) i dotyczy przede wszystkim regulacji cyklu sen/czuwanie i homeostazy energetycznej [57] w odpowiedzi na peryferyczne sygnały metaboliczne, takie jak: glukoza, leptyna i grelina [78]. Synteza mRNA prepro-



Ryc. 4. Dobowe zmiany stężenia kortyzolu (górna część) i oreksyny A (hipokretyny-1) (środkowa część) w płynie mózgowo-rdzeniowym oraz aktywności lokomotorycznej (dolna część) u małp *Saimiri sciureus*. Dane zobrazowane ciągłą linią (eksperyment 1) i kółkami (eksperyment 2) są wartościami średnimi $\pm$ SEM. Linia przerywana łączy punkt czasu kontrolnego z próbą pobraną w tym samym czasie, ale po przedłużeniu czasu przebudzenia o 5 godzin. Strzałki wskazują czas pobierania do analizy płynu mózgowo-rdzeniowego. Aktywność motoryczną mierzono w okresach 30-minutowych. Okresy ciemności zaznaczono czarnymi prostokątami umieszczonymi wzdłuż osi x (jest to ryc. 1 z [85], zamieszczony za zgodą red. Soc. Neurosci. J.Neurosci.)

oreksyny wzmacnia się w obecności niskich stężeń glukozy i *vice versa* [25]. U myszy ze znokautowanym genem kodującym syntezę preprooreksyny lub pozbawionych neuronów zawierających oreksynę pojawiają się objawy narkoleptyczne oraz w późniejszym okresie otyłość, mimo zmniejszenia ilości pobieranego pożywienia [26]. Dane te wskazują, że za pośrednictwem ANS oreksyna jest nie tylko „czujnikiem” peryferycznych sygnałów metabolicznych, lecz również reguluje wytwarzanie glukozy i jej wykorzystywanie w tkankach obwodowych [36,71]. A zatem, może być uważana za główny koordynator centralnego i peryferycznego działania hormonalnego, wpływającego na utrzymanie homeostazy glukozy [72].

Neurony reagujące na obecność cukru występują wyłącznie w podwzgórzu i pniu mózgu i są klasyfikowane jako neurony pobudzane przez glukozę lub hamowane przez ten cukier w odniesieniu do sposobu ich reakcji na zewnątrzkomórkowe zmiany stężenia glukozy w płynie

mózgowo-rdzeniowym [9]. Mechanizm wrażliwości neuronów na glukozę jest dwójaki: zależny lub niezależny od metabolizmu tego cukru [24]. Wrażliwość metaboliczna na glukozę jest określana na podstawie wpływu na aktywność glukokinazy, która rozpoczyna szlak glikolizy z wytworzeniem ATP, wpływając na aktywność neuronu przez zamykanie kanałów potasowych zależnych od ATP. Neurony zawierające oreksynę stanowią klasę neuronów hamowanych przez glukozę, ponieważ nieulegający metabolizmowi analog glukozę (2-deoksyglukoza) wywołuje taki sam efekt jak glukoza, a ich reakcja na ten cukier nie jest modyfikowana przez inhibitory glukokinazy. Co więcej, aktywność neuronów oreksynergicznych jest bardziej skutecznie hamowana przez glukozę w niskich stężeniach pirogronianu, mleczanu lub ATP, obrazujących niski poziom energii, podczas gdy wysokie stężenia tych metabolitów powodują zmniejszenie ich odpowiedzi na glukozę [76]. W przeciwieństwie do hamowania przez glukozę, aktywność neuronów zawierających oreksynę jest stymulowana przez aminokwasy w wyniku hamowania przewodnictwa kanałów potasowych zależnych od ATP [35]. Obniżają one działanie hamujące glukozę na te neurony. Tak wykształcony system sprawia, że neurony te są zdolne do monitorowania stężenia aminokwasów we krwi oraz pobudzania organizmu do spożycia pożywienia w odpowiedzi na brak niezbędnych aminokwasów niezależnie od stężenia cukru. Trzeci ważny składnik odżywczy – kwasy tłuszczowe nie wpływają na aktywność neuronów oreksynergicznych. Jednak stosowanie beztłuszczowej diety przez dłuższy czas może zaburzyć równowagę energetyczną całego organizmu na skutek modyfikacji wrażliwości neuronów oreksynergicznych na składniki pożywienia [36]. Wydaje się, że działanie podwzgórzowej oreksyny jest kontrolowane bardziej przez zrównoważenie diety niż po prostu jej wartość kaloryczną. Tak więc, bezpośredni wpływ różnych składników pożywienia na neurony oreksynergiczne mogłoby im umożliwić określoną „reakcję” na obecność poszczególnych komponentów diety.

Dalsze badania mające na celu określenie wpływu oreksyny na funkcjonowanie organizmu polegały na jej podaniu podskórnym, dożylnie lub bezpośrednio do płynu mózgowo-rdzeniowego. Podanie karmionym szczurom oreksyny A podskórnym [49] lub do trzeciej komory mózgu [81] powoduje wzrost stężenia glukozę i insuliny we krwi. Co więcej, wyeliminowanie neuronów układu współczulnego w wątrobie uniemożliwia indukowanie przez oreksynę endogennego wytwarzania glukozę przez ten organ [79]. Z kolei ciągła infuzja oreksyny A szczurom głodzoną powoduje wzrost stężenia glukozę w osoczu i zapobiega obniżeniu endogennemu wytwarzaniu cukru w wątrobie w późniejszych okresach dnia [79]. Obserwacje te wskazują, że działanie oreksyny stymuluje pobudzenie neuronów układu współczulnego i zwiększa syntezę glukozę przez wątrobę i pobieranie tego cukru przez mięśnie szkieletowe. Takie działanie oreksyny umożliwia przeżycie organizmu w czasie głodzenia, ponieważ neurony oreksynergiczne mogą być aktywowane, a wytwarzana w wątrobie glukoza dostarcza energię mięśniom i umożliwia zwierzętom poszukiwanie pokarmu [74].

W przeciwieństwie do insuliny [51], oreksyna A zmniejsza sekrecję glukagonu przez trzustkę szczura oraz izolowane wyspy Langerhansa, na skutek hamowania ekspresji genu kodującego proglukagon w sposób zależny od 3-kinazy fosfatydyloinozitolowej i fosforylacji PDK-1, AKT oraz czynnika transkrypcyjnego FOXO1, a wyciszenie genu *Foxo-1* odwraca hamujące działanie oreksyny A na ekspresję genu kodującego proglukagon [23]. Dane te wskazują, że oreksyna może zmniejszać hiperglukogonię i kontrolować stężenie glukozę we krwi. Podanie oreksyny A dożylnie myszom głodzoną kontrolnym lub z cukrzycą streptozotocynową powoduje obniżenie stężenia glukozę w surowicy bez zmiany stężenia insuliny [70]. Co więcej, u głodzonych szczurów poddawanych testowi tolerancji na glukozę, stężenie glukozę we krwi jest zmniejszone po uprzednim podaniu dootrzewnowym oreksyny A. Mogłoby się wydawać, że oreksyna A poprawia wrażliwość na insulinę. Oreksyna A aktywuje neurony VMH, wzmacnia indukowany przez insulinę transport glukozę i syntezę glikogenu w mięśniach szkieletowych [63].

Podobnie jak ekspresja genu i zawartość oreksyny w płynie mózgowo-rdzeniowym [15], neurony oreksynergiczne, zwłaszcza w PF i DMH podwzgórza, wykazują dobowy rytm aktywności [22]. A zatem, zegar biologiczny SCN reguluje rytm dobowy stężeń glukozę w osoczu głównie w wyniku zmian wytwarzania glukozę za pośrednictwem układów współczulnego i przywspółczulnego [32]. Jak wcześniej wspomniano, rytmiczne zmiany zawartości glukozę są niezależne od rytmu spożywania pokarmu lub hormonów regulujących metabolizm glukozę, takich jak insulina i glukagon oraz kortykosteron lub kortyzol [32]. Iniekcja icv antagonisty oreksyny całkowicie zapobiegała zjawisku występowania „fenomenu świtu” potwierdzając, że oreksyna rejonu PF jest głównym czynnikiem kontrolującym dobowy rytm stężeń glukozę w osoczu [31]. Chociaż oreksyna A wykazuje zarówno zwiększanie, jak i obniżanie stężenia glukozę w zależności od warunków przeprowadzania doświadczenia, te przeciwstawne efekty mogą oznaczać wzrost i spadek stężenia glukozę w cyklu okołodobowym. Dlatego dalsze badania są konieczne w celu wyjaśnienia mechanizmów, w jaki sposób przeciwne efekty wywoływane przez oreksynę są koordynowane w warunkach fizjologicznych [72].

W celu określenia długotrwałego braku oreksyny na homeostazę glukozę, użyto myszy ze znokautowanym genem kodującym syntezę preprooreksyny [71]. Młode 2-3-miesięczne myszy wykazywały zaburzenie mechanizmu działania insuliny na etapie fosforylacji AKT w podwzgórzu. Natomiast starsze 9-miesięczne charakteryzowały się hiperinsulinemią, zaburzonym testem tolerancji na glukozę i opornością na insulinę, a transdukcja sygnału indukowanego przez insulinę na etapie AKT była poważnie zaburzona w podwzgórzu, wątrobie i mięśniach szkieletowych. Co więcej, samice myszy ze znokautowanym genem kodującym syntezę preprooreksyny wykazywały również hiperleptynemię. Tak więc, brak oreksyny zaburza mechanizm działania insuliny w podwzgórzu i tkan-

kach peryferycznych sugerując, że oreksyna jest głównym czynnikiem w zapobieganiu wraz z wiekiem rozwoju oporności na insulinę [74].

SKUTKI ZABURZEŃ NATURALNEGO RYTMU DOBOWEGO

Istnienie i powszechność występowania zegara biologicznego wśród organizmów żywych, a zwłaszcza jego ważna funkcja w utrzymywaniu dobowego rytmu stężenia glukozy we krwi u ssaków, pozwala przypuszczać, że zakłócenia jego funkcjonowania mogą powodować negatywne konsekwencje dla zdrowia. Są to zarówno anomalie w podaży tego cukru, jak i stymulacji jego pobierania przez komórki ciała. Wszelkie zaburzenia w prawidłowym funkcjonowaniu tego układu prowadzą do powstania różnych chorób metabolicznych.

Częste zaburzenie rytmu dobowego oraz ciągłe jego reprogramowanie zachodzi u ludzi pracujących zmianowo, którzy permanentnie muszą przestawiać swój cykl snu i czuwania o 12 godzin. Prowadzony przez nich styl życia zakłóca rytmiczność snu i czas ekspozycji organizmu na światło słoneczne przez długi okres. Z fizjologicznego punktu widzenia oznacza to poważne zmiany w tolerancji glukozy, jak i reakcji organizmu na spożywany posiłek [47]. U takich osób obserwuje się zmniejszone stężenie leptyny i insuliny oraz podwyższoną zawartość glukozy. W rezultacie tych nieprawidłowości dochodzi do wzrostu masy ciała oraz rozwoju cukrzycy typu 2. Dane statystyczne potwierdzają, że występowanie otyłości, jak i insulinooporności wśród pracowników zmianowych jest dużo wyższe niż u osób o stałych godzinach pracy [38]. Obecnie problem ten jest bardzo dotkliwy, ponieważ według statystyk – prawie 20% osób zatrudnionych w uprzemysłowionych krajach jest pracownikami zmianowymi lub pracującymi w nocy. Wśród nich około 40% jest objętych ryzykiem zachorowania na choroby sercowo-naczyniowe [14]. Ostatnio natomiast, wśród pracowników zmianowych notuje się przewagę osób z zespołem metabolicznym, charakteryzującym się otyłością brzuszną, nadciśnieniem, dyslipidemią indukującą rozwój miażdżycy, insulinoopornością oraz zmniejszoną tolerancją na glukozę [34,66]. W okresie ponad 6-letnim u około 33% spośród belgijskich pracowników zmianowych zatrudnionych w dużych firmach przemysłowych zdiagnozowano zespół metaboliczny w porównaniu z około 22% wśród osób pracujących wyłącznie w dzień [14]. Obserwowano podwyższone ciśnienie krwi, zwiększone stężenie triacylogliceroli i glukozy, niską zawartość cholesterolu we frakcji HDL oraz nadwagę skorelowaną z otyłością brzuszną. Niestety brakuje danych o przyzwyczajeniach dietetycznych tej grupy. Poza brakiem informacji o diecie badania belgijskich pracowników są obarczone również innymi ograniczeniami. Badacze dysponowali tylko wynikami pomiarów stężenia glukozy i triacylogliceroli na czczo w celu zdefiniowania syndromu metabolicznego i jako granicę osób zdrowych uznano 120 mg/dl dla stężenia glukozy oraz 220 mg/dl dla stężenia triacylogliceroli we krwi [14]. W porównaniu z pracownikami dziennymi, pracownicy zmianowi zgłaszali częściej problemy z zasypia-

niem. Na zjawisko zaburzeń snu u pracowników zmianowych zwracają również uwagę polscy badacze, wskazując wśród przebadanych pracowników służby zdrowia i policjantów występowanie bezsenności istotnej klinicznie [3,58]. Niedobór snu pojawia się szczególnie często u ludzi pracujących więcej niż 6 nocy w miesiącu i mających dzieci poniżej 7 lat [58]. Dalsze badania są jednak konieczne celem wyjaśnienia patofizjologii tego procesu oraz objęcie pracowników zmianowych regularnym programem badań w celu określenia zaburzeń metabolicznych pozwalających na zmniejszenie obciążenia ich ryzykiem zachorowania na choroby sercowo-naczyniowe.

Inne badania wykazały, że poposiłkowe stężenie glukozy jest zwiększone u pracowników zmianowych w porównaniu z pracującymi tylko w dzień. Ponadto stwierdzono, że praca w nocy powoduje zmiany stężenia glukozy i lipidów w surowicy, ustępujące po powrocie tych osób do pracy wyłącznie w czasie dnia. Zaburzenia stężeń glukozy, lipidów i triacylogliceroli u pracowników zmianowych sugerują indukcję insulinooporności (tj. obniżonej wrażliwości mięśni, wątroby i komórek tkanki tłuszczowej na działanie insuliny), jako przyczynę rozwoju syndromu metabolicznego i w konsekwencji choroby wieńcowej serca [34]. Przypuszcza się, że przyczyną problemów zdrowotnych osób pracujących w systemie zmianowym jest nie tylko brak ekspozycji na światło słoneczne oraz aktywność nocna, lecz również stosowanie sztucznego oświetlenia [14]. Na potwierdzenie tej sugestii przemawiają doświadczenia przeprowadzone na zwierzętach. Wykazano, że aktywne w nocy myszy w wyniku 24-godzinnej ekspozycji na światło przybierają szybciej na wadze, wykazują obniżoną tolerancję na glukozę i jedzą większą część posiłku w czasie dnia, niż myszy w grupie kontrolnej, mimo spożycia tej samej ilości kalorii. Ponadto, w tych samych warunkach, lecz z dostępem do pożywienia tylko w godzinach nocnych nie zaobserwowano u gryzoni otyłości [20]. Stwierdzono także, że myszy karmione dietą wysokotłuszczową tylko w czasie fazy „jasnej” przybierały na wadze bardziej niż karmione tym samym pożywieniem w nocy [4], zwracając uwagę na czas spożywania pokarmów w czasie doby. W wyniku tych obserwacji odpowiedzi wymaga pytanie, czy spożywanie posiłków tylko w czasie dnia przez ludzi pracujących w nocy może być skutecznym sposobem kontrolowania masy ciała [82].

Dobowy rytm biologiczny może być zakłócony nie tylko przez spożywanie posiłku w nieodpowiednim czasie, ale również przez nieprawidłową dietę. Myszy karmione pożywieniem wysokotłuszczowym mają zmienione rytmy okołodobowe i wykazują przedłużony okres aktywności lokomotorycznej [39]. Co więcej, myszy te spożywają większą ilość pokarmu w czasie fazy „jasnej” niż zwierzęta karmione pożywieniem zrównoważonym i charakteryzują się zmienioną ekspresją zarówno genów zegarowych jak i kontrolowanych przez zegar. Na podstawie tych badań można wnioskować, że metabolizm może również regulować zegar peryferyczny. Pokarm oraz procesy związane z jego spożywaniem są silnymi bodźcami wpływającymi na okołodobową rytmikę ekspresji niektórych genów ze-

garowych, których produkty uczestniczą m.in. w utrzymaniu homeostazy glukozy i równowagi energetycznej. Stanowi on również swoisty Zeitgeber dla funkcjonowania oscylatorów, podobnie jak np. aktywność lokomotoryczna. W przypadku jednak odżywiania się, najbardziej prawdopodobnym chemicznym sensorem spajającym ten proces z ekspresją odpowiednich genów jest białko CRY1 [41]. Destabilizacja tego kryptochromu odbywa się poprzez fosforylację katalizowaną przez AMPK. Z kolei aktywność tej kinazy regulowana jest przez dostępność glukozy lub napływ do wnętrza komórki jonów Ca^{2+} [27].

Spożywanie pokarmu, aktywność lokomotoryczna i ekspozycja na światło były niegdyś ze sobą zsynchronizowane. Dotyczyło to również snu, trawienia i odpoczynku. Dzisiejszy styl życia zdesynchronizował te procesy, doprowadzając do poważnych zakłóceń w funkcjonowaniu organizmu. Brak koordynacji sygnałów pobudzających SCN doprowadza do zmian częstotliwości i amplitudy jego oscylacji, przez co organizm jest słabiej przygotowany do czekających go zadań. Cennych informacji o skutkach zdrowotnych wynikających z zaburzenia prawidłowego funkcjonowania zegara biologicznego dostarcza również badanie mysich mutantów typu knock-out. Gryzonie, których pozbawiono prawidłowych alleli poszczególnych genów zegarowych wykazują wiele nieprawidłowości w utrzymywaniu prawidłowej gospodarki energetycznej organizmu. Na przykład, u myszy ze zmutowanymi genami *Clock* stwierdzono w wielu tkankach rozwój zależnej od wieku hiperlikemii i hipoinsulinemii, a także otyłosczenie wątroby [44,74], na skutek zaburzonej sekrecji insuliny i proliferacji wysp trzustkowych. Zwierzęta z wyciszonymi genami *Cry* charakteryzowały się szybszą glukoneogenezą w wątrobie, przynajmniej częściowo w wyniku aktywowanej transdukcji sygnału z udziałem cAMP [85].

Porównanie dolegliwości pracowników zmianowych z objawami występującymi w mysich mutantach pozbawionych genów zegarowych nasuwa jednak pytanie, czy bardziej znacząca do uzyskania określonego fenotypu jest utrata genów, czy raczej rytmiczności ich ekspresji. W tym celu zbadano wpływ usunięcia podstawowych genów zegarowych (*Bmal1* lub *Clock*) w wątrobie w porównaniu z mutantami pozbawionymi tych samych genów we wszystkich komórkach ciała [44]. Okazuje się, że u myszy pozbawionych genu *Bmal1* nie zachodzi okołodobowa ekspresja genów kodujących białka o istotnych funkcjach metabolicznych, jak np. *Glut2*, powodując hipoglikemię podczas fazy głodzenia [44]. Odstępstwa od normoglikemii następują w warunkach utraty rytmu przez hepatocyty przy nienaruszonym cyklu pozostałych komórek. Po usunięciu genów we wszystkich komórkach nie obserwuje się tak znaczącego efektu. Organizm nadal zachowuje zdolność utrzymania stężenia glukozy w surowicy w zakresie normy. Przeprowadzone doświadczenia sugerują, że prawidłowe funkcjonowanie organizmu ssaków wymaga synchronizacji wszystkich endogennych oscylatorów. Okazuje się również, że asynchronizacja peryferycznych procesów z rytmem SCN jest groźniejsza dla zdrowia niż kompletna arytmiczność.

Mysie mutanty pozbawione genu *Clock* nie wykazują rytmiczności w warunkach nieprzerwanej ciemności, stają się żarłoczne, otyłe i charakteryzują się objawami klasycznego syndromu metabolicznego: hiperlikemią, dyslipidemią i stłuszczeniem wątroby [76], a dodatkowo obniżoną zawartością mRNA, kodującego oreksynę i grelinę, tj. neuropeptydów odpowiedzialnych za neuroendokrynną regulację pobierania pokarmu [1]. Na poparcie znaczenia okołodobowego zegara peryferycznego wskazują również doświadczenia z zastosowaniem myszy pozbawionych genu *Bmal1* w trzustce, charakteryzujących się podwyższonym stężeniem glukozy we krwi, zmniejszoną tolerancją na glukozę i zmniejszoną sekrecją insuliny, co prowadzi do rozwoju cukrzycy [44,54].

Badając przyczyny rozwoju otyłości i cukrzycy typu 2, nie należy opierać się wyłącznie na obserwacjach wynikających z delecji poszczególnych genów zegarowych, gdyż takie warunki doświadczalne odbiegają od stanu rzeczywistego. W celu analizy, jakie zmiany w ekspresji białek zegarowych mogą leżeć u podstaw tych chorób sprawdzono profil mRNA w neuronach jądra ogoniastego pnia mózgu otyłych myszy szczepów KKA^Y oraz ob/ob [33]. W tym celu zmierzono poziom transkrypcji podstawowych genów zegarowych u gryzoni z genetycznie uwarunkowaną otyłością oraz u osobników zdrowych karmionych dietą wysokotłuszczową. Okazuje się, że u zwierząt z nadmierną ilością tkanki tłuszczowej obserwuje się zablokowanie ekspresji genów *Bmal1*, którego produkt koordynuje wytwarzanie receptora jądrowego REV-ERB α . Co więcej, wysokotłuszczowa dieta pobudza ekspresję genu *Clock*. Natomiast u zwierząt z genetycznie indukowaną otyłością (linie: KKA^Y i ob/ob) obserwuje się obniżony poziom transkryptów kodujących białko CRY1, które reguluje wytwarzanie białka BMAL1. Wśród analizowanych modeli badawczych zaobserwowano również znacznie podwyższone stężenie glukozy oraz insuliny we krwi, co sugeruje wzrost insulinoporności w ich organizmach, przy czym objawy były łagodniejsze u myszy zdrowych z dietą bogatą w tłuszcze niż u modeli genetycznych KKA^Y oraz ob/ob.

W przypadku analizy genetycznej ludzi – zakrojone na dużą skalę badania dostarczają dowodów na znaczenie zaburzenia działania genów zegarowych w procesie patogenezy otyłości i cukrzycy typu 2. Haplotypy głównych genów zegarowych: *Bmal1*, *Cry2* i *Clock* są kojarzone z otyłością lub cukrzycą typu 2 [17,66]. Co więcej, desynchronizacja rytmów dobowych prowadzi do obniżenia stężenia leptyny, zwiększonych stężeń glukozy oraz pogorszenia testów tolerancji na glukozę, mimo podwyższonych stężeń insuliny w osoczu [59].

UWAGI KOŃCOWE

Zegar biologiczny kontroluje nie tylko cykl aktywności dobowej, ale reguluje również wiele procesów obejmujących metabolizm glukozy. Okołodobowa regulacja pracy narządów wewnętrznych, głównie trzustki i wątroby pozwala przygotować organizm u schyłku nocy do wzmożonej aktywności rano, a także zgromadzić zapasy energetyczne

w okresie spoczynku. Istnienie takiego systemu przynosi korzyści tylko wtedy, gdy styl życia idzie w parze z oscylacyjnymi warunkami środowiska. Niestety, nowoczesna cywilizacja znacznie odbiega od naturalnych wzorców. Zaburzenie ekspozycji świetlnej, nadmiar spożywanych posiłków, brak aktywności ruchowej, stres oraz skrócony i nieregularny sen przyczyniają się do zaburzenia homeostazy glukozy. Krótkie okresy spoczynku zakłócają równowagę między aktywnością układów współczulnego i przywspółczulnego, destabilizując rytm wydzielania oreksyny – neuropeptydu będącego najważniejszym czynnikiem koordynującym endogenny rytm stężenia glukozy w surowicy. W rezultacie dochodzi do hiperglikemii, a w wyniku wydłużonego występowania insuliny we krwi rozwija się również oporność tkanek na ten hormon. Następstwami tych objawów jest rozwój otyłości oraz cukrzycy typu 2. Zaburzony proces transkrypcji podstawowych genów zegarowych, takich jak *Clock*, *Bmal1*, *Cry1* i *Rev-erba* u mysich modeli tych chorób sugeruje, że podstawą ich rozwoju jest zaburzenie molekularnego mechanizmu funkcjonowania zegara biologicznego. Proponowana przez niektórych rola białka CRY1 jako chemicznego sensora, łączącego okołodobowy cykl zegarów peryferycznych z układem trawiennym ze schematem odżywiania się idealnie pasuje do tej teorii. Spożywanie posiłków w późnych godzinach nocnych oraz nieodpowiednia dieta przyczyniają się do zaburzenia wewnętrznego rytmu na poziomie komórkowym, jak i nadrzędnej roli SCN. Z tego powodu bardzo istotne dla naszego zdrowia jest prawidłowe pobudzenie rytmu endogennych oscylatorów. W tym celu sugeruje się zwiększenie ekspozycji organizmu na światło słoneczne w ciągu dnia oraz obniżenie spożycia pokarmów bogatych w tłuszcze. Równie ważnym aspektem umożliwiającym życie zgodnie z naszą naturą są ćwiczenia fizyczne, których wykonywanie w godzinach porannych poprawia tolerancję glukozy [18]. Wiadomo także nie od dziś, że zdrowy styl życia zmniejsza prawdopodobieństwo wystąpienia zaburzeń kardiologicznych, nowotworów oraz innych chorób cywilizacyjnych [65].

Badania genetyczne rytmów okołodobowych wskazują, że zegar biologiczny jest ściśle sprzężony z procesami kontrolującymi sen i metabolizm. Takie oddziaływania zapewniają wzajemne koordynowanie metabolizmu energetycznego z działaniem zegara biologicznego. Zaburzenie funkcjonowania zegara biologicznego albo metabolizmu prowadzi do dezorganizacji działania drugiego mechanizmu, wpływając na rozwój chorób metabolicznych, takich jak otyłość i cukrzyca typu 2. Dalsze badania pozwolą na wyjaśnienie, w jaki sposób mózg i zegary peryferyczne regulują procesy metaboliczne, jak pożywienie wpływa na działanie zegara biologicznego oraz jaki jest wpływ istnienia rytmów okołodobowych na zdrowie i zaburzenia metaboliczne u ludzi. Dane epidemiologiczne i kliniczne dotyczące szkodliwego wpływu pracy zmianowej na zdrowie wskazują, że oprócz zaburzeń snu i występowania zespołu metabolicznego, należy również zwrócić szczególną uwagę na rozwój chorób krążenia i przewodu pokarmowego oraz nowotworów piersi, a także zwiększone ryzyko poronień, przedwczesnych porodów i niską masę urodzeniową noworodków [3].

Coraz więcej nagromadzonych danych opisujących znaczenie genów zegarowych w regulacji dróg metabolicznych wskazuje miejsca docelowe dla nowych potencjalnych działań terapeutycznych. Jest prawdopodobne, że leki modulujące funkcjonowanie zegara biologicznego mogłyby być skuteczne w terapii poszczególnych chorób metabolicznych. Inną możliwością jest rozważenie stosowania chronoterapii, czyli podawania leków w określonym czasie dnia lub nocy, tj. wtedy, gdy ich skuteczność byłaby potencjalnie największa, a efekty uboczne najmniejsze.

PODZIĘKOWANIE

Autorzy serdecznie dziękują Panu dr hab. Piotrowi Bębasowi za wnikliwe przeczytanie maszynopisu i wniesienie poprawek.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Adamantidis A., de Lecea L.: The hypocretins as sensors for metabolism and arousal. *J. Physiol.*, 2009; 587: 33-40
- [2] Albrecht U., Eichele G.: The mammalian circadian clock. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 2003; 13: 271-277
- [3] Andrzejczak D., Kapała-Kempa M., Zawilska J.B.: Zdrowotne konsekwencje pracy zmianowej. *Przegl. Lek.*, 2011; 68: 383-387
- [4] Arble D.M., Bass J., Laposky A.D., Vitaterna M.H., Turek F.W.: Circadian timing of food intake contributes to weight gain. *Obesity*, 2009; 17: 2100-2102
- [5] Bargiello T.A., Jackson F.R., Young M.W.: Restoration of circadian behavioural rhythms by gene transfer in *Drosophila*. *Nature*, 1984; 312: 752-754
- [6] Blum I.D., Lamont E.W., Abizaid A.: Competing clocks: metabolic status moderates signals from the master circadian pacemaker. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 2012; 36: 254-270
- [7] Blum I.D., Patterson Z., Khazall R., Lamont E.W., Sleeman M.W., Horvath T.L., Abizaid A.: Reduced anticipatory locomotor responses to scheduled meals in ghrelin receptor deficient mice. *Neuroscience*, 2009; 164: 351-359
- [8] Bolli G.B., De Feo P., De Cosmo S., Perriello G., Ventura M.M., Calcinaro F., Lolli C., Campbell P., Brunetti P., Gerich J.E.: Demonstration of a dawn phenomenon in normal human volunteers. *Diabetes*, 1984; 33: 1150-1153
- [9] Burdakov D., González J.A.: Physiological functions of glucose-inhibited neurones. *Acta Physiol.*, 2009; 195: 71-78
- [10] Busino L., Bassermann F., Maiolica A., Lee C., Nolan P.M., Godinho S.I., Draetta G.F., Pagano M.: SCFFbxl3 controls the oscillation of the circadian clock by directing the degradation of cryptochrome proteins. *Science*, 2007; 316: 900-904
- [11] Cailotto C., van Heijningen C., van der Vliet J., van der Plassé G., Hahndold C., Kalsbeek A., Pévet P., Buijs R.M.: Daily rhythms in metabolic liver enzymes and plasma glucose require a balance in the autonomic output to the liver. *Endocrinology*, 2008; 149: 1914-1925
- [12] Cantó C., Gerhart-Hines Z., Feige J.N., Lagouge M., Noriega L., Milne J.C., Elliott P.J., Puigserver P., Auwerx J.: AMPK regulates ener-

gy expenditure by modulating NAD⁺ metabolism and SIRT1 activity. *Nature*, 2009; 458: 1056-1060

[13] Cuesta M., Clesse D., Pévet P., Challet E.: From daily behavior to hormonal and neurotransmitters rhythms: comparison between diurnal and nocturnal rat species. *Horm. Behav.*, 2009; 55: 338-347

[14] De Bacquer D., Van Risseghem M., Clays E., Kittel F., De Backer G., Braeckman L.: Rotating shift work and the metabolic syndrome: a prospective study. *Int. J. Epidemiol.*, 2009; 38: 848-854

[15] Desarnaud F., Murillo-Rodriguez E., Lin L., Xu M., Gerashchenko D., Shiromani S.N., Nishino S., Mignot E., Shiromani P.J.: The diurnal rhythm of hypocretin in young and old F344 rats. *Sleep*, 2004; 27: 851-856

[16] Doi M., Hirayama J., Sassone-Corsi P.: Circadian regulator CLOCK is a histone acetyltransferase. *Cell*, 2006; 125: 497-508

[17] Dupuis J., Langenberg C., Prokopenko I., Saxena R., Soranzo N., Jackson A.U., Wheeler E., Glazer N.L., Bouatia-Naji N., Gloyn A.L., Lindgren C.M., Mägi R., Morris A.P., Randall J., Johnson T. i wsp.: New genetic loci implicated in fasting glucose homeostasis and their impact on type 2 diabetes risk. *Nat. Genet.*, 2010; 42: 105-116

[18] Evans J.L., Youngren J.F., Goldfine I.D.: Effective treatments for insulin resistance: trim the fat and douse the fire. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2004; 15: 425-431

[19] Exton J.H., Mallette L.E., Jefferson L.S., Wong E.H., Friedmann N., Miller T.B.Jr., Park C.R.: The hormonal control of hepatic gluconeogenesis. *Recent Prog. Horm. Res.*, 1970; 26: 411-461

[20] Fonken L.K., Workman J.L., Walton J.C., Weil Z.M., Morris J.S., Haim A., Nelson R.J.: Light at night increases body mass by shifting the time of food intake. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010; 107: 18664-18669

[21] Frescas D., Valenti L., Accili D.: Nuclear trapping of the forkhead transcription factor FoxO1 via Sirt-dependent deacetylation promotes expression of glucogenetic genes. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 20589-20595

[22] Gompf H.S., Aston-Jones G.: Role of orexin input in the diurnal rhythm of locus coeruleus impulse activity. *Brain Res.*, 2008; 1224: 43-52

[23] Göncz E., Strowski M.Z., Grötzinger C., Nowak K.W., Kaczmarek P., Sassek M., Mergler S., El-Zayat B.F., Theodoropoulou M., Stalla G.K., Wiedenmann B., Plöckinger U.: Orexin-A inhibits glucagon secretion and gene expression through a Foxo1-dependent pathway. *Endocrinology*, 2008; 149: 1618-1626

[24] González J.A., Reimann F., Burdakov D.: Dissociation between sensing and metabolism of glucose in sugar sensing neurones. *J. Physiol.*, 2009; 587: 41-48

[25] Griffond B., Risold P.Y., Jacquemard C., Colard C., Fellmann D.: Insulin-induced hypoglycemia increases preprohypocretin (orexin) mRNA in the rat lateral hypothalamic area. *Neurosci. Lett.*, 1999; 262: 77-80

[26] Hara J., Yanagisawa M., Sakurai T.: Difference in obesity phenotype between orexin-knockout mice and orexin neuron-deficient mice with same genetic background and environmental conditions. *Neurosci. Lett.*, 2005; 380: 239-242

[27] Hardie D.G.: AMP-activated/SNF1 protein kinases: conserved guardians of cellular energy. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2007; 8: 774-785

[28] Hirayama J., Sahar S., Grimaldi B., Tamaru T., Takamatsu K., Nakahata Y., Sassone-Corsi P.: CLOCK-mediated acetylation of BMAL1 controls circadian function. *Nature*, 2007; 450: 1086-1090

[29] Huang W., Ramsey K.M., Marcheva B., Bass J.: Circadian rhythms, sleep, and metabolism. *J. Clin. Invest.*, 2011; 121: 2133-2141

[30] Kalsbeek A., Ruiter M., La Fleur S.E., Cailotto C., Kreier F., Buijs R.M.: The hypothalamic clock and its control of glucose homeostasis. *Prog. Brain Res.*, 2006; 153: 283-307

[31] Kalsbeek A., Scheer F.A., Perreau-Lenz S., La Fleur S.E., Yi C.X., Fliers E., Buijs R.M.: Circadian disruption and SCN control of energy metabolism. *FEBS Lett.*, 2011; 585: 1412-1426

[32] Kalsbeek A., Yi C.X., La Fleur S.E., Fliers E.: The hypothalamic clock and its control of glucose homeostasis. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2010; 21: 402-410

[33] Kaneko K., Yamada T., Tsukita S., Takahashi K., Ishigaki Y., Oka Y., Katagiri H.: Obesity alters circadian expressions of molecular clock genes in the brainstem. *Brain Res.*, 2009; 1263: 58-68

[34] Karlsson B., Knutsson A., Lindahl B.: Is there an association between shift work and having a metabolic syndrome? Results from a population based study of 27,485 people. *Occup. Environ. Med.*, 2001; 58: 747-752

[35] Karnani M.M., Apergis-Schoute J., Adamantidis A., Jensen L.T., de Lecea L., Fugger L., Burdakov D.: Activation of central orexin/hypocretin neurons by dietary amino acids. *Neuron*, 2011; 72: 616-629

[36] Karnani M., Burdakov D.: Multiple hypothalamic circuits sense and regulate glucose levels. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2011; 300: R47-R55

[37] Kimura F., Tsai C.W.: Ultradian rhythm of growth hormone secretion and sleep in the adult male rat. *J. Physiol.*, 1984; 353: 305-315

[38] Knutsson A.: Health disorders of shift workers. *Occup. Med.*, 2003; 53: 103-108

[39] Kohsaka A., Laposky A.D., Ramsey K.M., Estrada C., Joshi C., Kobayashi Y., Turek F.W., Bass J.: High-fat diet disrupts behavioral and molecular circadian rhythms in mice. *Cell Metab.*, 2007; 6: 414-421

[40] Kwarecki K., Zużewicz K.: Czynniki ludzki w bezpieczeństwie pracy. Najczęstsze kłopoty zdrowotne pracownika zmianowego. *Bezpieczeństwo Pracy. Nauka i Praktyka*, 2001; 9: 30-31

[41] Lamia K.A., Sachdeva U.M., DiTacchio L., Williams E.C., Alvarez J.G., Egan D.F., Vasquez D.S., Juguilon H., Panda S., Shaw R.J., Thompson C.B., Evans R.M.: AMPK regulates the circadian clock by cryptochrome phosphorylation and degradation. *Science*, 2009; 326: 437-440

[42] Lamia K.A., Storch K.F., Weitz C.J.: Physiological significance of a peripheral tissue circadian clock. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008; 105: 15172-15177

[43] Liu F., Xu G.Z., Wang L., Jiang S.X., Yang X.L., Zhong Y.M.: Gene expression and protein distribution of orexins and orexin receptors in rat retina. *Neuroscience*, 2011; 189: 146-155

[44] Marcheva B., Ramsey K.M., Buhr E.D., Kobayashi Y., Su H., Ko C.H., Ivanova G., Omura C., Mo S., Vitaterna M.H., Lopez J.P., Philipson L.H., Bradfield C.A., Crosby S.D., JeBailey L., Wang X., Takahashi J.S., Bass J.: Disruption of the clock components CLOCK and BMAL1 leads to hypoinsulinaemia and diabetes. *Nature*, 2010; 466: 627-631

[45] Miller B.H., McDearmon E.L., Panda S., Hayes K.R., Zhang J., Andrews J.L., Antoch M.P., Walker J.R., Esser K.A., Hogenesch J.B., Takahashi J.S.: Circadian and CLOCK-controlled regulation of the mouse transcriptome and cell proliferation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 3342-3347

[46] Mistlberger R.E.: Neurobiology of food anticipatory circadian rhythms. *Physiol. Behav.*, 2011; 104: 535-545

[47] Morgan L., Hampton S., Gibbs M., Arendt J.: Circadian aspects of postprandial metabolism. *Chronobiol. Int.*, 2003; 20: 795-808

[48] Nakahata Y., Kaluzova M., Grimaldi B., Sahar S., Hirayama J., Chen D., Guarente L.P., Sassone-Corsi P.: The NAD⁺-dependent deacetylase SIRT1 modulates CLOCK-mediated chromatin remodeling and circadian control. *Cell*, 2008; 134: 329-340

[49] Nowak K.W., Maćkowiak P., Switońska M.M., Fabiś M., Malenowicz L.K.: Acute orexin effects on insulin secretion in the rat: in vivo and in vitro studies. *Life Sci.*, 2000; 66: 449-454

- [50] Peek C.B., Ramsey K.M., Marcheva B., Bass J.: Nutrient sensing and the circadian clock. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2012; 23: 312-318
- [51] Quintero J.E., Kuhlman S.J., McMahon D.G.: The biological clock nucleus: a multiphasic oscillator network regulated by light. *J. Neurosci.*, 2003; 23: 8070-8076
- [52] Reppert S.M., Weaver D.R.: Coordination of circadian timing in mammals. *Nature*, 2002; 418: 935-941
- [53] Rutter J., Reick M., Wu L.C., McKnight S.L.: Regulation of clock and NPAS2 DNA binding by the redox state of NAD cofactors. *Science*, 2001; 293: 510-514
- [54] Sadacca L.A., Lamia K.A., deLemos A.S., Blum B., Weitz C.J.: An intrinsic circadian clock of the pancreas is required for normal insulin release and glucose homeostasis in mice. *Diabetologia*, 2011; 54: 120-124
- [55] Sahar S., Nin V., Barbosa M.T., Chini E.N., Sassone-Corsi P.: Altered behavioral and metabolic circadian rhythms in mice with disrupted NAD⁺ oscillation. *Aging*, 2011; 3: 794-802
- [56] Sahar S., Sassone-Corsi P.: Regulation of metabolism: the circadian clock dictates the time. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2012; 23: 1-8
- [57] Sakurai T., Mieda M.: Connectomics of orexin-producing neurons: interface of systems of emotion, energy homeostasis and arousal. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2011; 32: 451-462
- [58] Santorek-Strumiłło E., Zawilska J.B., Misiak P., Jabłoński S., Kordiak J., Brocki M.: Influence of the shift work on circadian-rhythms compare survey on health service employees and policemen. *Przegl. Lek.*, 2012; 69: 103-106
- [59] Scheer F.A., Hilton M.F., Mantzoros C.S., Shea S.A.: Adverse metabolic and cardiovascular consequences of circadian misalignment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009; 106: 4453-4458
- [60] Schibler U., Ripperger J., Brown S.A.: Peripheral circadian oscillators in mammals: time and food. *J. Biol. Rhythms*, 2003; 18: 250-260
- [61] Schmutz I., Ripperger J.A., Baeriswyl-Aebischer S., Albrecht U.: The mammalian clock component PERIOD2 coordinates circadian output by interaction with nuclear receptors. *Genes Dev.*, 2010; 24: 345-357
- [62] Schoolwerth A.C., Smith B.C., Culpepper R.M.: Renal gluconeogenesis. *Miner. Electrolyte Metab.*, 1988; 14: 347-361
- [63] Shiuchi T., Haque M.S., Okamoto S., Inoue T., Kageyama H., Lee S., Toda C., Suzuki A., Bachman E.S., Kim Y.B., Sakurai T., Yanagisawa M., Shioda S., Imoto K., Minokoshi Y.: Hypothalamic orexin stimulates feeding-associated glucose utilization in skeletal muscle via sympathetic nervous system. *Cell Metab.*, 2009; 10: 466-480
- [64] Silver R., Balsam P.D., Butler M.P., LeSauter J.: Food anticipation depends on oscillators and memories in both body and brain. *Physiol. Behav.*, 2011; 104: 562-571
- [65] Šoltés L.: Civilization diseases and their relations with nutrition and the lifestyle. *Physiol. Res.*, 2009; 58 (Suppl. 1): i-ii
- [66] Sookoian S., Gemma C., Fernández Gianotti T., Burgueño A., Alvarez A., González C.D., Pirola C.J.: Effects of rotating shift work on biomarkers of metabolic syndrome and inflammation. *J. Intern. Med.*, 2007; 261: 285-292
- [67] Stanley S., Pinto S., Segal J., Pérez C.A., Viale A., DeFalco J., Cai X., Heisler L.K., Friedman J.M.: Identification of neuronal subpopulations that project from hypothalamus to both liver and adipose tissue polysynaptically. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010; 107: 7024-7029
- [68] Takahashi J.S., Hong H.K., Ko C.H., McDearmon E.L.: The genetics of mammalian circadian order and disorder: implications for physiology and disease. *Nat. Rev. Genet.*, 2008; 9: 764-775
- [69] Tsuneki H., Murata S., Anzawa Y., Soeda Y., Tokai E., Wada T., Kimura I., Yanagisawa M., Sakurai T., Sasaoka T.: Age-related insulin resistance in hypothalamus and peripheral tissues of orexin knockout mice. *Diabetologia*, 2008; 51: 657-667
- [70] Tsuneki H., Sugihara Y., Honda R., Wada T., Sasaoka T., Kimura I.: Reduction of blood glucose level by orexins in fasting normal and streptozotocin-diabetic mice. *Eur. J. Pharmacol.*, 2002; 448: 245-252
- [71] Tsuneki H., Wada T., Sasaoka T.: Role of orexin in the regulation of glucose homeostasis. *Acta Physiol.*, 2010; 198: 335-348
- [72] Tsuneki H., Wada T., Sasaoka T.: Role of orexin in the central regulation of glucose and energy homeostasis. *Endocr. J.*, 2012; 59: 365-374
- [73] Tsunematsu T., Yamanaka A.: The role of orexin/hypocretin in the central nervous system and peripheral tissues. *Vitam. Horm.*, 2012; 89: 19-33
- [74] Turek F.W., Joshu C., Kohsaka A., Lin E., Ivanova G., McDearmon E., Laposky A., Losee-Olson S., Easton A., Jensen D.R., Eckel R.H., Takahashi J.S., Bass J.: Obesity and metabolic syndrome in circadian Clock mutant mice. *Science*, 2005; 308: 1043-1045
- [75] Um J.H., Pendergast J.S., Springer D.A., Foretz M., Viollet B., Brown A., Kim M.K., Yamazaki S., Chung J.H.: AMPK regulates circadian rhythms in a tissue- and isoform-specific manner. *PLoS One*, 2011; 6: e18450
- [76] Venner A., Karnani M.M., Gonzalez J.A., Jensen L.T., Fugger L., Burdakov D.: Orexin neurons as conditional glucosensors: paradoxical regulation of sugar sensing by intracellular fuels. *J. Physiol.*, 2011; 589: 5701-5708
- [77] Vitaterna M.H., King D.P., Chang A.M., Kornhauser J.M., Lowrey P.L., McDonald J.D., Dove W.F., Pinto L.H., Turek F.W., Takahashi J.S.: Mutagenesis and mapping of a mouse gene, Clock, essential for circadian behavior. *Science*, 1994; 264: 719-725
- [78] Yamanaka A., Beuckmann C.T., Willie J.T., Hara J., Tsujino N., Mieda M., Tominaga M., Yagami K., Sugiyama F., Goto K., Yanagisawa M., Sakurai T.: Hypothalamic orexin neurons regulate arousal according to energy balance in mice. *Neuron*, 2003; 38: 701-713
- [79] Yi C.X., Serlie M.J., Ackermans M.T., Foppen E., Buijs R.M., Sauerwein H.P., Fliers E., Kalsbeek A.: A major role for perifornical orexin neurons in the control of glucose metabolism in rats. *Diabetes*, 2009; 58: 1998-2005
- [80] Yin L., Wu N., Curtin J.C., Qatanani M., Szwergold N.R., Reid R.A., Waitt G.M., Parks D.J., Pearce K.H., Wisely G.B., Lazar M.A.: Rev-erba, a heme sensor that coordinates metabolic and circadian pathways. *Science*, 2007; 318: 1786-1789
- [81] Yoshimichi G., Yoshimatsu H., Masaki T., Sakata T.: Orexin-A regulates body temperature in coordination with arousal status. *Exp. Biol. Med.*, 2001; 226: 468-476
- [82] Yu L., Zhang X.Y., Zhang J., Zhu J.N., Wang J.J.: Orexins excite neurons of the rat cerebellar nucleus interpositus via orexin 2 receptors in vitro. *Cerebellum*, 2010; 9: 88-95
- [83] Zalecenia kliniczne dotyczące postępowania u chorych na cukrzycę, 2012. Polskie Towarzystwo Diabetologiczne. http://www.cukrzyca.info.pl/zalecenia_kliniczne (27.03.2013)
- [84] Zeitzer J.M., Buckmaster C.L., Parker K.J., Hauck C.M., Lyons D.M., Mignot E.: Circadian and homeostatic regulation of hypocretin in a primate model: implications for the consolidation of wakefulness. *J. Neurosci.*, 2003; 23: 3555-3560
- [85] Zhang E.E., Liu Y., Dentin R., Pongsawakul P.Y., Liu A.C., Hirota T., Nusinow D.A., Sun X., Landais S., Kodama Y., Brenner D.A., Montminy M., Kay S.A.: Cryptochrome mediates circadian regulation of cAMP signaling and hepatic gluconeogenesis. *Nat. Med.*, 2010; 16: 1152-1156

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.