Downloaded from labdiagnosis.ir at 9:10 +0430 on Wednesday July 18th 2018

ریتم شبانه روزی در انسان و تأثیر آن در بیماری‌های ژنتیک

• سمیرا شعبانی
دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک، اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، بخش ژنتیک

• دکتر صادق ولیان
استاد ژنتیک، اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، بخش ژنتیک
svallian@sci.ui.ac.ir

چکیده

جایزه نوبل فیزیولوژی و پزشکی در سال ۲۰۱۷ به دانشمندان کشف کننده ساعت بیولوژیکی اعطا شد که نشان دهنده اهمیت این پدیده در حیات موجودات زنده است. موجودات زنده از جمله انسان دارای یک ساعت بیولوژیکی درونی هستند که به آن‌ها در سازگاری با ریتم منظم شبانه روز کمک می‌کند. ریتم‌های شبانه روزی انسان، ریتم‌های درونی با دوره ای حدود ۲٤ ساعت هستند که توسط نشانه‌های محیطی مثل چرخه روشنایی/تاریکی هدایت می‌شوند. مرکز اصلی هماهنگی ساعت شبانه روزی بدن در هسته Suprachiasmatic(SCN) در هیپوتالاموس قرار دارد. سیستم ساعت شبانه روزی بسیاری از فعالیت‌های بیولوژیکی انسان را تنظیم می‌کند. مطالعات پیشرفته اخیر به طور چشمگیری نقش عوامل ژنتیکی در سیستم ریتمی شبانه روزی را نشان داده است. ارتباط اختلال در ریتم شبانه‌روزی و ژن‌های آن با تعدادی از بیماری‌های انسان گزارش شده است. در اینجا خلاصه‌ای از ارتباط این سیستم با بیماری‌های اختلالات خواب، اختلال طیف اوتیسم (ASD) و سرطان در انسان ارائه می‌شود.

کلمات کلیدی: ریتم شبانه روزی، سیستم ساعت شبانه‌روزی، اختلالات خواب، اختلال طیف اوتیسم، سرطان

مقدمه

یکی از ویژگی‌های کلیدی زندگی روی کره زمین، توانایی سازگاری با محیط زیست است. مکان‌های جغرافیایی مختلف، محیط زیست متفاوتی دارند و موجودات باید خود را با شرایطی که در محل زندگی آن‌ها شایع است سازگار کنند تا بقا یابند. با این حال، در هر موقعیت مکانی، تغییرات در نور و دمای محیط در نتیجه گردش زمین به صورت شبانه روزی اتفاق می‌افتد. برای انطباق با چنین تغییراتی، اکثر موجودات دارای یک ساعت بیولوژیکی درونی هستند که چرخه روز/شب را پیش بینی می‌کند و به آن‌ها در بهبود فیزیولوژیکی و رفتار کمک می‌کند. این ریتم درونی شبانه روزی به نام Circadian شناخته می‌شود که از واژه‌های لاتین Circa به معنی "اطراف" و dies به معنی "روز" گرفته شده است. ریتم‌های شبانه روزی در طی تکامل حفظ شده‌اند و در موجوداتی چون سیانوباکترهای تک سلولی، پروتوزوآ ها[1] و تمام ارگانیسم‌های چند سلولی شامل قارچ‌ها، گیاهان، حشرات، جوندگان و انسان شناخته شده است [۱].

اخیراً جایزه نوبل فیزیولوژی و پزشکی در سال ۲۰۱۷ به Jeffrey C.Hall، Michael Rosbash و Michael W.Young برای کشف مکانیسم‌های مولکولی کنترل کننده ریتم شبانه‌روزی[2]، با مطالعه بر روی مگس میوه، اهدا شد. سیستم ساعت شبانه‌روزی[3]، الگوهای خواب و تغذیه، هوشیاری، دمای بدن، فعالیت امواج مغزی، تولید هورمون، تنظیم مقادیر گلوکز و انسولین، تولید ادرار، بازسازی سلولی و بسیاری از فعالیت‌های بیولوژیکی دیگر را تنظیم می‌کند. در

1- Protozoans
2- Molecular mechanisms controlling the circadian rhythm
3- Circadian clock

Downloaded from labdiagnosis.ir at 9:10 +0430 on Wednesday July 18th 2018

پستانداران، ساعت اصلی در هسته Suprachiasmatic (SCN[4]) هیپوتالاموس مغز قرار دارد. سیگنال‌های محیطی متفاوت به SCN تحویل داده می‌شوند، SCN این اطلاعات محیطی را ثبت کرده و فاز نوسان گرها را در سلول‌های محیطی، بافت‌ها و اندام‌ها هماهنگ می‌کند [۲].

سیستم ساعت شبانه روزی در انسان

اجزای کلیدی ساعت مولکولی که رفتار ریتمی دارند شناسایی شده و در گونه‌های متعددی از جمله مگس میوه، حلزون، ماهی و پستانداران مشخص شده‌اند. در حالی‌که تفاوت‌های قابل توجهی در سیستم آن‌ها وجود دارد، به نظر می‌رسد دارای اصول مشابهی هستند. یعنی فاکتورهای رونویسی به صورت مثبت ژن‌های ساعت[5] را تولید می‌کنند و پس از آن، بازخورد منفی به تدریج موجب مهار رونویسی می‌شود. بنابراین یک حلقه بازخورد رونویسی ترجمه[6](TTFL) تشکیل می‌شود. علاوه بر این ژن‌های چرخه ساعت در TTFL باعث القای تعداد زیادی ژن خروجی دیگر می‌شوند و بنابراین زمان بندی فرآیندهای سلولی را فراهم می‌کنند.

در پستانداران از جمله انسان، فاکتورهای رونویسی اصلی شامل موارد زیر است: $BMAL_{1,2}$ که با Clock یا $NPAS_2$ مولکول‌های دوتایی (دایمر) تشکیل می‌دهد و رونویسی ژن‌های($PER_{1,2,3}$) PERIOD و ($CRY_{1,2}$) CRYPTOCHROME را از طریق در همکنش با عناصر پروموتری E-box تحریک می‌کند. پروتئین‌های PER و CRY در سیتوپلاسم به هم متصل شده و فرم کمپلکس ایجاد می‌کنند. در یک آستانه معین، کمپلکس PER/CRY به هسته مهاجرت کرده و فعالیت $BMAL_1$ و Clock و به دنبال آن رونویسی PER و CRY را مهار می‌کند. کمپلکس مهارکننده PER/CRY با فسفوریلاسیون توسط CK_{1e}[7] و سپس یوبی کوئیتیناسیون[8] به پروتئازوم[9] منتقل شده و تخریب می‌گردد. متعاقب آن مهار Clock[10] و $BMAL_1$[11] از بین رفته و یک حلقه بازخورد ۲۴ ساعته جدید شروع می‌شود. این سیستم با تعاملات پیچیده توسط چندین حلقه بازخورد دیگر تنظیم می‌شود. نوسانات در رونویسی REV-ERBα[12] و RORα[13] موجب بیان ریتمی $BMAL_1$ می‌شود و کمپلکس $BMAL_1$/Clock به طور مستقیم بر روی ژن REV-ERBα عمل می‌کند و یک حلقه فرعی به وجود می‌آورد [۵-۳] (شکل ۱).

اختلالات خواب ریتم شبانه روزی[14](CRSD)

چرخه خواب/ بیداری با همئوستازی خواب کنترل می‌شود. تمایل به خواب به تدریج با بیداری طولانی مدت افزایش می‌یابد و در طول خواب کاهش پیدا می‌کند. علاوه بر این، خواب و بیداری به نوبت رخ می‌دهند و زمان وقوع آن‌ها توسط سیستم ساعت شبانه روزی کنترل می‌شود [۲]. اختلالات خواب ریتم شبانه روزی (CRSD) متشکل از یک سری الگوهای مزمن اختلالات ریتم خواب (برای حداقل ۱ ماه) می‌باشند. این اختلالات به دلیل تغییرات سیستم زمان بندی شبانه روزی، یا به دلیل عدم هماهنگی بین زمان بندی ریتم شبانه روزی درونی و زمان خواب و

4- Suprachiasmatic nucleus
5- Clock genes
6- Transcription-Translation Feedback Loop
7- Casein kinase 1e
8- Ubiquitination
9- Proteasome
10- Circadian locomotor output cycles kaput
11- Brain and muscle Arnt-like 1
12- Reverse viral erythroblastosis oncogene products
13- Retinoic acid-related orphan receptor
14- Circadian rhythm sleep disorders

بیداری برای فعالیت‌های روزانه می‌باشند. در نتیجه، افراد با CRSD در معرض مضرات اختلال عملکرد خواب و بیداری قرار می‌گیرند.

علاوه بر اختلالات خواب، اختلالات روانی به ویژه افسردگی و اضطراب در بیماران مبتلا به تقریباً همه انواع CRSD رایج است و باید در تشخیص مورد توجه قرار گیرد [٦].

۱- اختلال خواب فاز تاخیری[15] DSPD

اختلال خواب فاز تاخیری با یک ناتوانی مزمن یا مکرر در به خواب رفتن یا بیدار شدن در زمان‌های نرمال و قابل قبول اجتماعی مشخص می‌شود که منجر به علائمی مثل دشواری در خوابیدن و خواب آلودگی شدید در طول روز به ویژه در صبح می‌شود. در تعریف آن، تأخیر بیش از دو ساعت در دوره خواب اصلی نسبت به زمان‌های قابل قبول اجتماعی وجود دارد. این افراد در صبح با سختی از خواب بیدار می‌شوند و اغلب برای مدرسه یا کار دیر می‌کنند. زمانی که این افراد مجبور به خواب در زمان مطلوب بیولوژیکی خود شوند و به طور خود به خود بعد از دوره عمیق خواب خود بیدار شوند، خواب و عملکرد روزانه آن‌ها طبیعی می‌شود.

عوامل متعدد بیولوژیکی، رفتاری، محیطی و روانی در توسعه DSPD نقش دارند. مکانیسم‌های لازم برای DSPD عبارت‌اند از:

۱- کاهش پاسخ به اثر فاز پیشرفته نور در صبح

۲- افزایش حساسیت به پاسخ فاز تاخیری نور شبانه

۳- زمان طولانی تر از حد طبیعی برای تکمیل یک چرخه شبانه روزی (دوره شبانه روزی طولانی تر)

افراد دارای فاز شبانه روزی تاخیری به احتمال زیاد شب‌ها کار می‌کنند و در معرض نور شب قرار می‌گیرند و یا دیر از خواب بیدار می‌شوند، که این موضوع می‌تواند ریتم شبانه روزی را به تأخیر بیاندازد. بنابراین چرخه معیوب خواب و بیداری دارای تأخیر را ادامه می‌دهند.

موارد خانوادگی و تظاهرات پلی مورفیسم ژن‌های ساعت شبانه روزی در DSPD نشان دهنده یک مبنای ژنتیکی برای این وضعیت است [٦]. با استفاده از روش ژن کاندید[16] تعدادی از پلی مورفیسم های ژن $PERIOD_3$ (PER_3) برای نمونه‌های ساده DSPD گزارش شده است. این پلی مورفیسم ها شامل یک هاپلوتایپ تعریف شده با پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی[17] SNP (rs10462020)، یک پلی مورفیسم VNTR[18] (rs57875989) در ناحیه کد کننده و یک هاپلوتایپ پلی مورفیسم مرتبط با کمپلکس پروموتر است. همچنین گزارش شده که هاپلوتایپ PER_3 باعث ASPD همراه با افسردگی در یک شجره با چهار عضو شده است. این نتایج نشان می‌دهد که پلی مورفیسم PER_3 ممکن است با تنظیم هموستاتیک خواب انسان مرتبط باشد.

همچنین مطالعات انجام شده در موش نشان می‌دهد که ژن PER_3 برای ریتم شبانه روزی غیر ضروری است. زیرا موش‌های دارای نقص PER_3، تغییر الگوی بیان ژن‌های ساعت شبانه روزی در SCN و یا تغییر ریتم‌های رفتاری نشان ندادند [٧]. با این حال، به تازگی موش‌هایی دارای نقص PER_3 گزارش شده‌اند که دوره شبانه روزی کوتاه‌تر و فاز پیشرفته ریتم PER_1 در بافت‌های محیطی داشتند [٨]. نتایج نشان می‌دهد که PER_3 ممکن است نقش مهمی در تنظیم ریتم‌های شبانه روزی پیرامونی داشته باشد. گروه دیگری دریافتند که موش‌های دارای نقص PER_3، دارای حساسیت کم تر به نور هستند و پیشنهاد شد که ممکن است PER_3 در مسیر ورودی نور دخالت داشته باشد. این یافته‌ها حاکی از آن است که عملکرد ژن PER_3 ممکن است به تعامل بین سیستم شبانه روزی و هموستازی خواب کمک کند[٢].

15- Delayed sleep-phase disorder
16- Candidate gene
17- Single nucleotide polymorphism
18- Variation number tandem repeat

Downloaded from labdiagnosis.ir at 9:10 +0430 on Wednesday July 18th 2018

اخیراً پلی مورفیسم های در معرض خطر یا محافظت شده در مقابل DSPD خود به خودی گزارش شدند. این عدم تعادل در حال حاضر با گزارش در مورد یک خانواده ترکیه ای اصلاح شده است که الگوی وراثت مندلی را نشان می‌داد. فنوتیپ با رفتار خواب/بیداری با طول دوره ۲٤/۸ ساعته مشخص شد. در اینجا نیز غربالگری با توالی‌های ژن‌های کاندید ساعت انجام گرفت و در نتیجه جهش در Splice site ژن CRY_1 (rs184039278) شناسایی شد. این جهش باعث حذف اگزون ۱۱ رونوشت CRY_1 می‌شود که به نوبه خود منجر به حذف ۲٤ اسید آمینه C-terminal پروتئین می‌گردد. بنابراین، مشخص شد که این یک جهش کسب عملکرد (GOF) است که باعث افزایش در همکنش CRY_1 با پروتئین‌های Clock و PER می‌شود. تقویت مهار رونویسی به گونه ای ثابت با طول دوره افزایش یافته DSPD سازگار است[۹].

۲- اختلال فاز خواب پیشرفته[19] ASPD

اختلال فاز خواب پیشرفته با پیشرفت در قسمت عمیق خواب در ارتباط با زمان خواب و بیداری مورد نیاز مشخص می‌شود. بیماران دچار اختلال مزمن یا مکرر در بیدار ماندن تا زمان عادی برای خوابیدن، با اختلال در زمان بیدار شدن عادی نیز مواجه هستند. برای بیماران ASPD یک دوره شبانه روزی کوتاه تر تشخیص داده شده است و عوامل ژنتیکی نقش مهمی در توسعه ASPD دارند[٦].

همین طور موفقیت‌های قابل توجهی در تشخیص بیماری ASPD با بررسی تعدادی از شجره‌های خانوادگی ASPD که وراثت مندلی از نوع اتوزومی را نشان می‌دادند، به دست آمده است. نخستین گزارش توصیف شده، شناسایی یک جهش در یک شجره بزرگ ASPD در Utah بود که در آن بیماران دوره ۲۳/۳ ساعت داشتند. این شجره به اندازه کافی بزرگ بود که بتوان آنالیزهای پیوستگی کلاسیک را انجام داد. با این آنالیز، ناحیه ای نزدیک به تلومر بازوی کوتاه کروموزوم ۲ شناسایی شد که حاوی ژن انسانی PER_2 بود. اگزون ها با استفاده از روش SSCP[20] بررسی شدند و اگزون ۱۷ به عنوان محل جهش مشخص شد. تعیین توالی ناحیه مزبور منجر به شناسایی یک جهش از نوع Missense (rs121908635) گردید. این جهش در ناحیه پیش بینی شده در همکنش با کازئین‌کیناز 1 (CK_1) قرار داشت و منجر به جایگزینی یک آمینواسید سرین، با گلیسین شده بود. بیان in vitro آلل جهش یافته نشان داد که در مقایسه با آلل طبیعی، هیپوفسفوریله شده است. یافته مزبور با ایجاد یک موش Knock-in در محیط زنده تأیید شد. موش‌هایی که ژن جهش یافته PER_2 انسانی را حمل می‌کردند، طول دوره ۲۰/۷ ساعت را نشان دادند که شروع فعالیت آن ٤ ساعت زودتر از موش‌های طبیعی بود.

بررسی دومین شجره ASPD فنوتیپی بسیار شبیه به جهش حمل‌کننده PER_2 را نشان داد. از آنجایی که این شجره بسیار کوچک تر بود، امکان آنالیز پیوستگی وجود نداشت. در نتیجه غربالگری جهش توسط ژن‌های کاندید ساعت و توالی یابی مستقیم صورت گرفت. با استفاده از این استراتژی، جهش(rs104894561) در ژن $CSNK_1D$ کد کننده پروتئین $ck_{1\delta}$ کشف شد که باعث ایجاد یک دوره کوتاه مشابه موش‌های knock-in می‌شد.

آخرین جهش بررسی شده از ASPD، براساس یک شجره کوچک تر با ۳ فرد مبتلا بود. در این مورد هم از روش غربالگری ژن کاندید استفاده شد و توسط آن یک پلی مورفیسم Missense (rs201220841)در ژن CRY_2 کشف شد، که بر توانایی پروتئین CRY_2 برای در همکنش با لیگاز یوبی کوئیتینه کننده E_3($FBXL_3$)تأثیر می‌گذاشت. دوره شبانه روزی خواب و بیداری موش‌های Knock-in حمل کننده این جهش به طور قابل توجهی کوتاه تر بود. این دوره کوتاه تر با انجام آزمایش‌های مولکولی با استفاده از ترانس ژن‌های گزارشگر لوسیفراز[21] در حضور نوسانگرهای محیطی تأیید شد [۷]و[۱۰].

19- Advanced sleep-phase disorder
20- Single-strand conformation polymorphism analysis
21- Luciferase reporter genes

Downloaded from labdiagnosis.ir at 9:10 +0430 on Wednesday July 18th 2018

Downloaded from labdiagnosis.ir at 9:10 +0430 on Wednesday July 18th 2018

۳- اختلال ریتم خواب/بیداری نامنظم[22] ISWRD

اختلال ریتم خواب/بیداری نامنظم با الگوی خواب و بیداری بدون نظم شناخته می‌شود. به طوری که چندین دوره خواب و بیداری در طول چرخه ۲٤ ساعته رخ می‌دهد. این اختلال بیشتر در افراد مسن دارای جنون و در بیماران دارای اختلالات رشد شایع است. عوامل متعدد فیزیولوژیکی، رفتاری و محیطی در توسعه ISWRD نقش دارند. بیشترین مکانیسم ایجاد کننده این بیماری شامل تخریب نورون‌های مرکزی SCN و کاهش ورود عوامل هماهنگ کننده خارجی مانند نور است که منجر به تضعیف نوسان مرکزی شبانه روزی و ناهماهنگی زمانی ریتم‌های شبانه روزی می‌شود.

٤- اختلال خواب غیر ۲٤ ساعته[23] N24SWD

اختلال خواب غیر ۲٤ ساعته که قبلاً به عنوان اختلال ریتم free-running شناخته می‌شد، با الگوی مزمن یا مکرر چرخه خواب و بیداری غیر هماهنگ با محیط ۲٤ ساعته مشخص می‌شود. به طور معمول یک رانش روزانه ثابت در شروع خواب و زمان بیداری رخ می‌دهد (معمولاً در زمان دیرتر و دیرتر). علت N24SWD در افراد نابینا، کاهش یا عدم درک نور است. با این حال تمام بیمارانی که این نقص را دارند، نابینا نیستند. زیرا در بعضی افراد، اطلاعات نوری از سلول‌های گانگلیونی شبکیه هنوز می‌توانند به SCN برسند. عوامل هماهنگ کننده دیگر نیز می‌توانند منجر به میانکنش غیرطبیعی بین هموستازی خواب و ریتم شبانه روزی درونی شوند، از جمله: ۱) کاهش حساسیت به نور ۲) تغییر و کاهش نشانه‌های اجتماعی به دلیل بیماری روانی ۳) جهش در ژن CK_1 و ٤) ناهماهنگی بین ملاتونین و ریتم‌های خواب.

٥- اختلال Jet-lag

اختلال Jet-lag ناشی از سفر در چندین منطقه زمانی متفاوت و متعاقب آن عدم هماهنگی بین ساعت شبانه روزی درونی و زمان محلی مقصد است. علائم Jet-lag معمولاً در عرض ۱ تا ۲ روز پس از سفر ظاهر می‌شوند. تظاهرات اصلی Jet-lag، بی قراری عمومی، اختلالات خواب، اختلال در هوشیاری روزانه، اشتهای کم، آگاهی کم، افسردگی، زودرنجی و اضطراب است. ناهماهنگی درونی ریتم‌های فیزیولوژیکی ناشی از منطقه زمانی مسئول بسیاری از علائم این اختلال است. شدت و نوع علائم Jet-lag به متغیرهایی مثل تعداد مناطق زمانی طی شده و جهت حرکت بستگی دارد. همه مسافرانی که از چندین منطقه زمانی عبور می‌کنند اختلال Jet-lag را نشان نمی‌دهند. اما اکثر این افراد اختلال در خواب و بیداری را تجربه می‌کنند[٦].

ژن‌های ساعت شبانه روزی در بیماران مبتلا به اختلال طیف اوتیسم بسیار پلی مورفیک هستند.

اختلال طیف اوتیسم[24] (ASD) نام گروهی از اختلالات رشد است. ASD شامل طیف گسترده ای از علائم، مهارت‌ها و سطوح ناتوانی است.

بیماران ASD اغلب ویژگی‌های زیر را دارند:

۱) مشکلات اجتماعی شامل ناتوانی در ارتباط و تعامل با دیگران

۲) رفتارهای تکراری با فعالیت‌های محدود

۳) ناتوانایی فرد در عملکرد اجتماعی مثل کار یا سایر حوزه‌های زندگی

اختلال طیف اوتیسم با توجه به تنوع تعداد کپی‌های متغیر ژنومی[25]، موتاسیون های تک ژنی و وراثت چند عاملی، یک بیماری بسیار هتروژن است. ژن‌های متعددی در ارتباط با ASD کشف شده‌اند که بیشتر آن‌ها در عملکرد یا تشکیل سیناپس نقش دارند. بنابراین یک مشخصه پاتولوژیک ASD اختلال سیناپسی است [۱۱]. کودکان مبتلا به اوتیسم دارای شیوع بیشتر اختلالات خواب نسبت به کودکان نرمال هستند. تقریباً ۸۳-٤٤٪ از نوزادان

22- Irregular sleep-wake rhythm disorder
23- Non-24 hour sleep-wake disorder
24- Autism spectrum disorder
25- Genomic copy number variation

و کودکان دارای ASD مشـکلات خواب دارند. مشکلات خواب این بیماران شـامل اختلال در شـروع یا پیوسـتگی خواب و یا هردوی آن‌ها است.

بررسـی‌های انجام شـده نشان داده اسـت که ژن‌های ریتم شبانه روزی $MTNR_1B$ و $MTNR_1A$، $NPAS_2$، PER_2، PER_1 با ASD همراه هستند. بنابراین، ممکن است اختلال ژن‌های شـبانه روزی باعث ایجاد ASD شود یا به پاتوفیزیولوژی ASD کمک کند. درک بیشـتر مکانیسـم‌های زمینه ای که باعث اختلال خواب در کودکان مبتلا به اوتیسـم می‌شود، بـه درک بهتـر علت ASD کمک می‌کنـد. در یک مطالعه ۲۸ بیمـار ASD (۱٤ بیمـار همراه بـا اختلالات خواب و ۱٤ بیمـار بدون اختلالات خواب) و ۲۳ فرد شـاهد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مناطق کد کننده ۱۸ ژن ساعت و ژن‌هـای کنتـرل کننده آن‌ها توالی یابی شـد. جهش‌های تشخیص داده شده با آنالیزهای مستقیم توالی یابی ارزیابی شده و افراد کنترل مورد آزمایش قرار گرفتند.

نتایـج این مطالعـه منجر به شناسـایی ۳٦ جهش از نوع missense (تغییر در بازهای آلی همراه با تغییر آمینواسید)، در ۱۱ ژن شـد. نتایج حاصله به صورت گروه‌های A، B و کنترل در جدول شماره ۱ خلاصه شده است.

چنانچه در جدول شماره ۱ نشان داده شده است، جهش $p.R_{493}C$ در PER_3 در هر دو گروه تشخیص داده شد. یک تغییر Missense $p.P_{932}L$ در PER_2 تنها در گروه کنترل مشـاهده شـد. جهش در $ARNTL_2$، NR_1D_1، Clock تنها در افراد مبتلا به ASD با اختلال خواب شـناخته شد. شـیوع جهش‌هایی که تنها یکبار شناسایی شد تفاوت قابل توجهـی را بین بیماران ASD و افراد کنترل نشـان می‌داد. دو نـوع جهش تنها در بیماران ASD دارای اختلال خواب شناسایی شد: $p.F_{498}S$ در TIMELESS و $p.R_{366}Q$ در PER_3. موتاسـیون در ژن‌های مربـوط به circadian که بر عملکرد ژن تأثیر دارند در بیماران ASD بیشـتر از گروه کنترل اسـت. به طور خلاصه نتایج حاصـل از این مطالعه نشـان دادند که ژن‌های مربوط بـه circadian به احتمال زیـاد در Psychopathology بیمـاری ASD دخالـت دارند [۱۳, ۱۲] (جدول شماره ۱).

ژن‌های ساعت شبانه روزی در سرطان

در جوامـع مدرن، تغییرات در شـیوه زندگـی منجر به اختلالات متداول هموستازی شبانه روزی درونی می‌شود که موجب افزایش خطر بیماری‌های مختلف از جمله سـرطان اسـت. ساعت شبانه روزی توسـط ژن‌های حلقه بازخورد شـبانه روزی عمل می‌کند و فیزیولوژی روزانه را از طریق ارتباط با تکثیر و متابولیسـم سلولی، ترمیم آسیب DNA، آپوپتوز، هموستازی انرژی، عملکرد نورواندوکرین و ایمنی در سـطح ارگانیسـم کنترل می‌کند. مطالعات اخیر نشـان داده‌اند که نقص در ژن‌های شـبانه روزی یا پلی مورفیسم تـک نوکلئوتیدی در ایـن ژن‌ها، با افزایش خطـر ابتلا به سـرطان در ارتباط است. اختلال سیستم شبانه روزی اخیراً به عنوان عامل خطر مسـتقل سـرطان شـناخته شده است. مطالعات بیشتر در مکانیسم سرکوب تومور با کنترل ساعت مولکولی درونی، به بهبود کارآیی پیشگیری و درمان سرطان منجر می‌شود، که این موضوع تأثیر قابل توجهی در سلامت انسـان دارد. ژن‌هایی که در هر دو حلقـه مثبت و منفی از سـاعت مولکولـی کار می‌کنند، برای سـرکوب تومور در in vivo اهمیت دارند. مکانیسـم سرکوب تومور با کنترل ساعت در میان انسان‌ها و جوندگان حفظ شده است[۱٤].

ارتباط ژن‌های ساعت شبانه روزی و سرطان

ژن $BMAL_1$[۲٦]

مشـخص شده پلی مورفیسـم تک نوکلئوتیدی (SNP) در ژن $BMAL_1$ در انسـان با بیماری‌هـای مختلف مانند دیابـت نوع ۲، فشـار خون بالا، اختـلالات خواب، پیری، نارسایی عصبی و نقص‌های ایمنی همراه است. همچنین با سرطان‌هایی از جمله سرطان پستان، کولورکتال، پروستات، پانکراس و تخمدان، کارسـینومای سـلول‌های سنگفرشی، لنفومـای B-cell، لوسـمی لنفوئیـدی مزمـن (ALL)،

26- Brain and muscle aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator – like1

Downloaded from labdiagnosis.ir at 9:10 +0430 on Wednesday July 18th 2018

Downloaded from labdiagnosis.ir at 9:10 +0430 on Wednesday July 18th 2018

لوسمی میلوئیدی حاد (AML) و لوسمی میلوئیدی مزمن (CML) در ارتباط است [۱۵].

سرکوب بیان $BMAL_1$ در سلول‌های سرطانی پروستات، ریه یا گلیوما به طور قابل توجهی پتانسیل متاستاز آن‌ها را افزایش می‌دهد. $BMAL_1$ در سرکوب تومور نقش دارد، از عملکردهای آن می‌توان سرکوب سیگنالینگ PI_3K-$AKTMMP_2$ غیر کنترل شده برای تهاجم تومور، فعال کردن آپوپتوز با اتصال به P_{53} و توقف چرخه سلولی را نام برد. از بین بردن $BMAL_1$ در موش‌ها، هموستازی رفتار شبانه روزی را از بین می‌برد، که همراه با فنوتیپ های پیری، نقص آگاهی، التهاب مزمن، سرطان و پاسخ نامنظم به داروهای ضد سرطان مانند Oxaliplatin، Etoposide، Docetaxel و Cyclophosphamide است. تخریب خاص بافتی $BMAL_1$ خطر آدیپوژنز غیرطبیعی، مقاومت به انسولین، تجمع ROS سمی، بی ثباتی ژنومی، پیری و تقسیم سلولی کنترل نشده در اپیدرم را افزایش می‌دهد [۱۵].

ژن‌های CK1δ و $CK_{1\varepsilon}$[۲۷]

$CK_{1\varepsilon}$ نقش مهمی در سرطان‌های مرتبط با MYC در انسان دارد. جهش در ژن‌های $CK_{1\delta}$ و $CK_{1\varepsilon}$ با سرطان‌های کولورکتال، پانکراس، پروستات، پستان و تخمدان همراهی دارد. همچنین با اختلالات نورونی، اختلالات خواب، التهاب مزمن، پیری و همین طور سندروم متابولیک در ارتباط است. اختلال $CK_{1\delta}$ یا $CK_{1\varepsilon}$ در موش‌ها موجب اختلال در هموستازی شبانه روزی و افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان و بیماری‌های خودایمنی می‌شود.

ژن CLOCK[۲۸]

پلی مورفیسم های تک نوکلئوتیدی در ژن CLOCK انسان با افزایش استعداد سرطان پستان، کولورکتال، ریه، تخمدان، پوست، پانکراس و پروستات، لنفوای B-cell و لوسمی لنفوئیدی مزمن (CLL) همراه است. همچنین با اختلال دو قطبی، اختلالات نورونی و سندروم‌های متابولیک شامل چاقی و کبد چرب غیرالکلی مرتبط با چاقی[۲۹] (NAFLD) مرتبط است.

مطالعات نشان داده که موش‌های هموزیگوت در جهش منفی غالب CLOCK(clock Δ19/Δ19) قادر به حفظ ریتم رفتار شبانه روزی پس از قرار گرفتن در تاریکی طولانی مدت نیستند. این موش‌ها افزایش خطر نارسایی قلبی و ایمنی، پیری زودرس، اختلال پاسخ به آسیب DNA و سندروم‌های متابولیک مختلفی مانند چاقی، NAFLD، دیابت، هایپرکلسترولمی و هایپرگلیسیریدمی را نشان می‌دهند.

ژن CRY[۳۰]

پلی مورفیسم های تک نوکلئوتیدی در ژن $CRY_{1,2}$ با افزایش استعداد برای سرطان‌های پستان، کولورکتال، آندومتر، پروستات، پوست، تیروئید همراه است. همچنین با کارسینومای هپاتوسولار (HCC)، آدنوکارسینومای داکتال پانکراس، کارسینومای سلول سنگفرشی، گلیوما، CLL، CML، لنفومای non-Hodgkin(NHL)، بیماری پارکینسون، اختلالات رفتاری، التهاب حاد و سندروم‌های متابولیک مانند چاقی و دیابت نوع ۲ همراهی نشان می‌دهد. مهار بیان CRY_2 در سلول‌های MCF-7[۳۱] منجربه اختلال در تنظیم ژن‌های مهم برای تکثیر سلولی آپوپتوز، آنژیوژنز، التهاب و متاستاز می‌شود.

موش‌های جهش یافته در CRY دارای نقص در بازسازی بافت هستند و افزایش خطر ابتلا به التهاب مزمن، سندروم متابولیک، پیری زودرس، اختلال ترمیم آسیب DNA، فشار خون بالا و اختلالات خواب را نشان می‌دهد.

27- Casein kinase 1 δ and ε
28- The circadian locomotor output cycles kaput
29- Obesity-related non-alcoholic fatty liver disease
30- Cryptochrome
31- Michigan cancer foundation-7

Downloaded from labdiagnosis.ir at 9:10 +0430 on Wednesday July 18th 2018

ژن PER

SNP و جهش در ژن $PER_{1,2,3}$ در انسان با افزایش خطر ابتلا به سرطان‌های تیروئید، پستان، پروستات، تخمدان، آندومتر، پانکراس، کولورکتال، پوست و ریه، HCC، کارسینومای کولورکتال، لنفومای B-cell، کارسینومای سلول سنگفرشی، گلیوما، AML، CML و CLL همراه است. در این اختلالات جهش در سیتوکین های التهابی، آنکوژن‌ها و سرکوبگرهای تومور از جمله PKA، Bcl-xl، P_{38}، تلومراز، P_{21}، P_{53}، ATM و Wee_1 ایجاد می‌شود. SNP و جهش در ژن انسانی PER با چاقی، دیابت نوع ۲، اختلالات رفتار، خواب و تغذیه، بیماری‌های قلبی عروقی، پیری، افسردگی، التهاب مزمن و اختلالات نورونی مرتبط است. تیم‌های مختلف تحقیقاتی به طور مستقل نشان دادند که موش‌های مدل دارای نقص PER_2، PER_1 و یا هر دوی آن‌ها افزایش خطر ابتلا به تومور اندام‌های گوارشی، اسکلتی، تولید مثل و سیستم ایمنی، رشد نئوپلاستیک در استخوان، پیری زودرس، مشکلات قلبی عروقی، اختلالات رفتاری، نقص ایمنی، دیابت، بیماری کبدی، هیپوگلیسمی و هیپرانسولینمی را نشان می‌دهند.

ژن‌های ROR α and δ[۳۲]

SNP و جهش $ROR_{\alpha \text{ or } \delta}$ در انسان با افزایش خطر ابتلا به سرطان‌های پستان و پروستات، آدنوکارسینومای کولورکتال، تومور تیروئید، نقص ایمنی، چاقی، مقاومت به انسولین و آدیپوژنز ارتباط دارد. خطر سرطان در موش‌های فاقد RORα یا RORδ به دقت مشاهده نشده است. با این حال، این موش‌ها دارای نقص سیستم ایمنی هستند و هایپرپلازی آدیپوسیت نشان می‌دهند. اختلال در δ یا RORα همچنین با تسریع پیری و اختلالات نورونی در موش‌ها همراه است.

ژن‌های REV-ERB α and β[۳۳]

$REV\text{-}ERB_{\alpha \text{ and } \beta}$ به عنوان گیرنده هسته ای $Nr_1d_{1,2}$[۳۴] شناخته می‌شوند. اهداف مستقیم رونویسی $REV\text{-}ERB_{\alpha \text{ and } \beta}$ ژن‌های کلیدی متابولیک کنترل کننده هموستازی چربی و انرژی هستند. $REV\text{-}ERB_{\alpha}$ تنها ژن گیرنده هسته ای است که مکرراً در سرطان پستان انسانی بالا می‌رود و با بقای ضعیف همراه است. SNP و جهش در ژن $REV\text{-}ERB_{\alpha}$ انسان با تومور تیروئید، چاقی، سندروم‌های متابولیک، التهاب مزمن و بیماری‌های اتوایمن همراه است. موش‌های فاقد $REV\text{-}ERB_{\alpha}$ هموستازی شبانه روزی ندارند و نقص ایمنی، سندروم متابولیک و چاقی ناشی از رژیم غذایی را نشان می‌دهند[۱۵].

جمع بندی

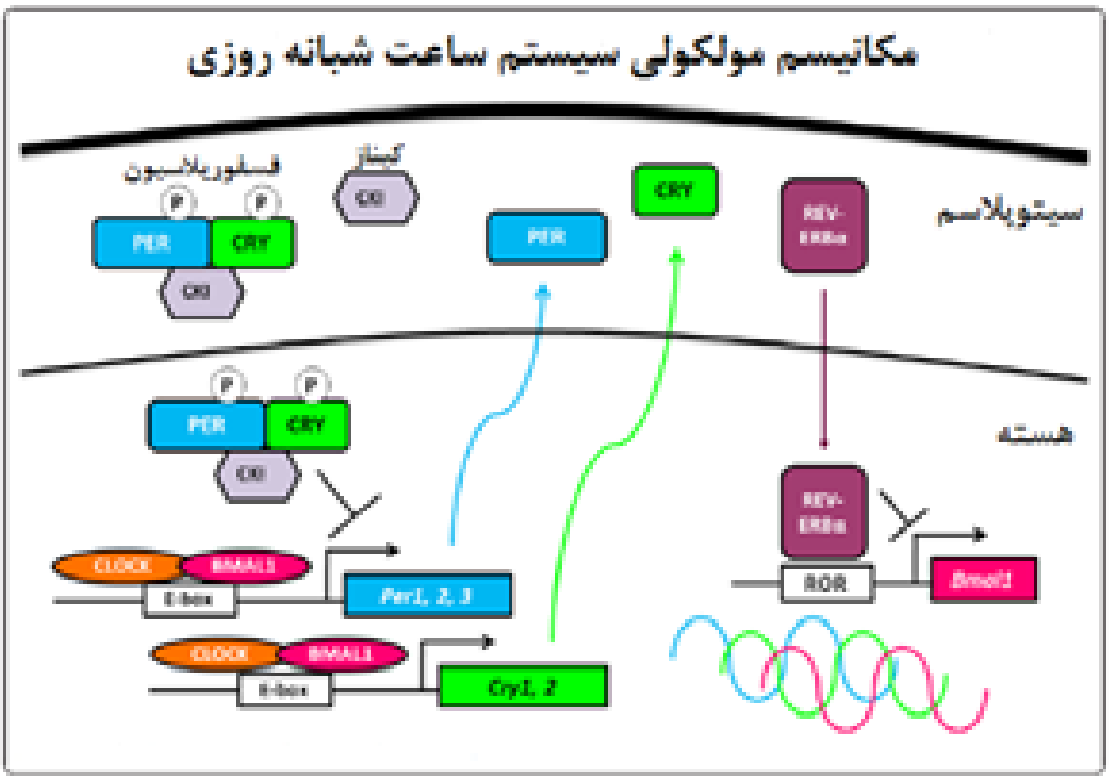
به طور کلی مطالعات اخیر نشان داده‌اند که نقص در ژن‌های سیستم شبانه روزی، با افزایش خطر ابتلا به بیماری‌ها و سرطان‌های مختلف همراه است. مطالعات بیشتر و بررسی دقیق ارتباط مکانیسم مولکولی سیستم ساعت شبانه روزی با بیماری‌های متفاوت به همراه بهبود کارایی پیشگیری و درمان بیماری‌ها، تأثیر قابل توجهی در سلامت انسان خواهد داشت.

32- Retinoic acid-related orphan receptor
33- Reverse viral erythroblastosis oncogene products alpha and beta
34- Nuclear receptor Rev-erb alpha

Downloaded from labdiagnosis.ir at 9:10 +0430 on Wednesday July 18th 2018

شکل ۱: مکانیسم مولکولی سیستم ساعت شبانه روزی

فاکتورهـای رونویسـی CLOCK و $BMAL_1$ به فـرم هترودایمر، رونویسـی $PER_{1,2,3}$ و $CRY_{1,2}$ و همچنین ROR و $REV\text{-}ERB_{\alpha,\beta}$ را از طریـق اتصـال به E-box در ناحیه پروموتری آن‌ها فعال می‌کنـد. پروتئین‌های PER و CRY به تدریج در سیتوپلاسـم تجمع می‌یابند و توسـط $CK_{1\,\delta,\varepsilon}$ فسفوریله می‌شوند. سپس PER و CRY و CK_1 به فرم کمپلکس به هسـته منتقل می‌شـوند و با هترودایمر $CLOCK\text{-}BMAL_1$ میان کنش کرده و رونویسی ژن‌های ROR، CRY، PER و REV-ERB را مهار می‌کنند. در ضمن رونویسـی $BMAL_1$ به صورت مثبت از طریق ROR و به صورت منفی توسـط REV-ERB تنظیم می‌شود [۲].



Downloaded from labdiagnosis.ir at 9:10 +0430 on Wednesday July 18th 2018

جدول ۱: جهش‌های مربوط به آنالیز ژن‌های ریتم شبانه روزی

گروه **A**: بیماران **ASD** دارای اختلالات خواب، گروه **B**: بیماران **ASD** بدون اختلالات خواب و افراد کنترل [۱۱].

گروه	ژن	تغییر باز	تغییر آمینو اسید
گروه A	TIMELESS	c.1493T > C	p.F498S
	NR1D1	c.58A > C	p.S20R
	PER3	c.1477C > T	p.R493C
	CLOCK	c.2551A > G	p.H542R
	ARNTL2	c.1418T > C	p.L473S
	PER3	c.1361G > A	p.R366Q
گروه B	MTNR1B	c.974G > A	p.A325V
	PER3	c.1477C > T	p.R493C
	PER1	c.3722G > A	p.S1241 N
	TIMELESS	c.1141G > A	p.A325T
	ARNTL	c.38G > C	p.S13T
	MTNR1B	c.174G > A	p.G24E
	PER2	c.3682G > C	p.P1228A
	PER3	c.3793A > G	p.T1177A
کنترل	PER2	c.2795C > T	p.P932L

References

1- Buhr, E.D. and J.S. Takahashi, Molecular components of the Mammalian circadian clock, in Circadian clocks. 2013, Springer. p. 3-27.

2- Hida, A., S. Kitamura, and K. Mishima, Pathophysiology and pathogenesis of circadian rhythm sleep disorders. Journal of physiological anthropology, 2012. 31(1): p. 7.

3- Brown, S.A., E. Kowalska, and R. Dallmann, (Re) inventing the circadian feedback loop. Developmental cell, 2012. 22(3): p. 477-487.

4- Robinson, I. and A. Reddy, Molecular mechanisms of the circadian clockwork in mammals. FEBS letters, 2014. 588(15): p. 2477-2483.

5- Ray, S. and A.B. Reddy, Cross-talk between circadian clocks, sleep-wake cycles, and metabolic networks: Dispelling the darkness. BioEssays, 2016. 38(4): p. 394-405.

6- Zee, P.C., H. Attarian, and A. Videnovic, Circadian rhythm abnormalities. Continuum: Lifelong Learning in Neurology, 2013. 19(1 Sleep Disorders): p. 132.

7- von Schantz, M., Natural Variation in Human Clocks. Advances in genetics, 2017. 99: p. 73.

8- Pendergast, J.S., R.C. Friday, and S. Yamazaki, Distinct functions of Period2 and Period3 in the mouse circadian system revealed by in vitro analysis. PloS one, 2010. 5(1): p. e8552.

9- Patke, A., et al., Mutation of the Human Circadian Clock Gene CRY1 in Familial Delayed Sleep Phase Disorder. Cell, 2017. 169(2): p. 203-215. e13.

10- Ptáček, L., C. Jones, and Y.-H. Fu. Novel insights from genetic and molecular characterization of the human clock. in Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology. 2007. Cold Spring Harbor Laboratory Press.

11- Zoghbi, H.Y. and M.F. Bear, Synaptic dysfunction in neurodevelopmental disorders associated with autism and intellectual disabilities. Cold Spring Harbor perspectives in biology, 2012. 4(3): p. a009886.

12- Yang, Z., et al., Circadian-relevant genes are highly polymorphic in autism spectrum disorder patients. Brain and Development, 2016. 38(1): p. 91-99.

13- Goto, M., et al., Role of a circadian-relevant gene NR1D1 in brain development: possible involvement in the pathophysiology of autism spectrum disorders. Scientific Reports, 2017. 7.

14- Kelleher, F.C., A. Rao, and A. Maguire, Circadian molecular clocks and cancer. Cancer letters, 2014. 342(1): p. 9-18.

15- Kettner, N.M., C.A. Katchy, and L. Fu, Circadian gene variants in cancer. Annals of medicine, 2014. 46(4): p. 208-220.

Downloaded from labdiagnosis.ir at 9:10 +0430 on Wednesday July 18th 2018