

DOI: 10.13376/j.cbls/2015197

文章编号: 1004-0374(2015)11-1427-06



童建, 苏州大学医学部教授、博士生导师, 从事生物节律分子机制和辐射生物效应方面的研究。研究从中枢核团、细胞信使和基因表达等不同水平上, 对生物钟的结构和功能进行了深入的解析。机体的生理功能、生化代谢、行为改变等均表现昼夜节律现象, 而节律的紊乱可导致多种疾病。研究成果揭示了机体生化代谢、免疫调节和精神行为的节律现象, 以及因昼夜节律紊乱而引发疾病的机制, 在时间生物学、时间病理学和时间治疗学等领域具有一定的应用价值。上述研究成果已获省部级科技进步奖二等奖1项、三等奖4项。在国内专业期刊发表学术论文200余篇, 主编和参编专著8部。

时间毒理学研究进展

秦粉菊^{1,2}, 陈丽莉¹, 童建^{1*}

(1 苏州大学公共卫生学院, 苏州 215123; 2 苏州科技学院生物科学技术教研室, 苏州 215009)

摘要: 作为时间生物学的一个主要分支, 时间毒理学主要探讨外源性有害因素与内源性生物节律之间的相互作用及其机制, 主要的研究内容包括毒物的时间毒性、机体的时间感受性、毒物时间动力学、时间-剂量和时间-效应关系, 以及毒物对生物节律的各种影响。时间毒理学研究的成果, 不仅可以阐明化学物或药物时间毒性的发生机制和变化规律, 而且可为化学物中毒的诊断、治疗和预防提供新的科学方法和实践途径。

关键词: 时间毒性; 化学物; 药物; 生物节律

中图分类号: Q41; R99 **文献标志码:** A

Progress of the study on chronotoxicology

QIN Fen-Ju^{1,2}, CHEN Li-Li¹, TONG Jian^{1*}

(1 School of Public Health, Soochow University, Suzhou 215123, China; 2 Department of Biological Science and Technology, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China)

Abstract: As a major branch of chronobiology, chronotoxicology is to explore interactions between environmental xenobiotics and biological rhythms of the organisms. Chronotoxicology mainly deals with chronotoxicity of chemicals, chronotolerance of the organisms, toxicokinetics, time-dose and time-effect relationship, as well as toxic effects of chemicals on biological rhythms. The study of toxicology is aimed to elucidate mechanisms underlying chronotoxicity induced by chemicals or drugs in order to provide new ways in treatment and prevention of intoxication.

Key words: chronotoxicity; chemicals; drug; biological rhythm

收稿日期: 2015-07-15

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(“973”项目)(2012CB947600); 国家自然科学基金青年项目(81302463)

*通信作者: E-mail: tongjian@suda.edu.cn; Tel: 0512-65880069

时间毒理学 (chronotoxicology)^[1] 是时间生物学的一个主要分支, 它是探讨外源性有害因素与内源性生物节律相互作用及其机制的科学。时间毒理学应用时间生物学的基本理论和方法, 对毒理学中的一些基本问题, 从节律性和动态变化的角度, 探讨各种毒性损害的时间特征和作用机制。时间毒理学研究内容主要包括两方面: 一是阐明生物体的内在生物节律对毒物作用或体内过程的影响; 二是探讨毒物对机体生物节律的损害作用, 特别是毒物的时间毒性以及毒作用的各种时间-剂量和时间-效应关系。

外源性物质对机体的时间效应主要引起3方面的变化: 由致病因子, 如微生物等引起的随时间而发展的病理过程, 属时间病理学研究的范畴。探讨药物或治疗措施对疾病或损伤的依时效应, 包括药物对机体的作用(时间药效和时间毒性)和机体对药物的作用(时间药物动力学), 是时间药理学的任务。而各种环境因子对生物结构和功能的时间损害作用, 则是时间毒理学研究的内容, 其目的是在了解时间毒性变化规律的基础上, 提供诊断、治疗和预防中毒的新途径。

1 毒物时间毒性研究

1.1 化学物时间毒性

对毒物的时间性毒性研究起源于对药物的毒性研究。时间药理学研究表明, 许多药物, 包括作用于中枢神经系统、心血管系统的药物, 激素类药物, 细菌毒素以及抗癌药等, 对机体的毒性作用都具有昼夜节律性。一般认为 LD₅₀ (LC₅₀) 是一个相对稳定的毒性指标, 但通过动物实验表明, 许多药物和毒物的 LD₅₀ (LC₅₀) 也存在着昼夜规律性^[2]。Ben-Cherif 等^[3] 研究了丙戊酸在一天中不同时间毒性变化, 发现在其他条件相同的情况下, 一个 LD₅₀ 的剂量所引起的小鼠死亡率在 9 HALO (hours after light onset, HALO 光照后时间) 仅 40%, 而在 17 HALO 却高达 93.33%。在一天中不同时间给小鼠注射 LD₅₀ 剂量的氟苯尼考, 结果在 16 HALO 时死亡率为最高, 是死亡率最低点 4 HALO 时的 2.5 倍, 余弦分析表明, 其 LD₅₀ 剂量引起的死亡率具有明显的昼夜差异^[4]。到目前为止, 已对许多化学物的时间性毒性作了初步的研究。这些化学物包括药物、有机溶剂、杀虫剂和除草剂、细菌毒素以及一些致癌物等^[5-10]。

1.2 节律异常与肿瘤发生

倒班作业、时差反应和钟基因突变所引起的

昼夜节律异常与癌症的高发生率有明显的相关性^[11-12]。夜间睡眠时相中光暴露导致的去同步化、激素活性的增加和褪黑素分泌的抑制都是可能的影响因素^[13-14]。肿瘤细胞一旦启动, 其生长的昼夜节律模式发生改变^[15]。实验发现, 哺乳动物的 SCN 受到损坏后, 昼夜节律模式出现去同步化, 造成骨肉瘤或乳腺癌生长的加速。

细胞的分裂增殖和 DNA 修复需要与细胞周期过程同步化。控制昼夜节律振荡转录反馈环的许多基因, 如 *Per1-3*、*Cry1,2* (酪蛋白激酶维持稳定性), *Rev-erba*、*Rev-erbβ*、*Rora*、*Rorβ* 等蛋白, 又如 CREB 和 CLOCK/BMAL1 异二聚体等, 都参与细胞分裂或 DNA 损伤的调控^[16-18], 如 *Wee1*、*c-Myc* 基因和细胞周期蛋白可调节细胞周期蛋白 B1-Cdc2 激酶的表达, 并作为有丝分裂的调控因子^[19-20]。

除了正常细胞的细胞周期外, 钟基因还参与肿瘤细胞的增殖控制。在 12/12 h 光/暗周期条件下, 观察环己酮 202 在不同给药时点 (ZT3、ZT11、ZT19) 对小鼠骨肉瘤生长的影响。已知环己酮 202 可下调酪蛋白激酶、ERK2 和细胞周期蛋白依赖性激酶的活性。结果表明, 在清晨位相 (ZT3) 时给药, 对肿瘤生长的抑制作用最大。该效应与钟基因 (*Per2*、*Rev-erba*、*BMAL1*) 和钟控基因 (*c-Myc*、*Wee1*、*CyclinB1* 和 *Cdk1*) mRNA 的变化相一致^[21]。

关于钟基因和细胞周期基因之间的联系, 大多数研究表明, 钟基因控制细胞生长的 *Per1*、*2* 蛋白。高水平的 *Per1*、*2* 是有效的肿瘤抑制剂, 它调节共济失调性毛细血管扩张症突变 (ATM) 和 Rad3 相关 (ATR) 蛋白激酶对 Chk₁/Chk₂ 的磷酸化作用, 使细胞周期停滞在 G₁-S/G₂-M 期以修复 DNA 损伤。CKI-ε 对 *Per2* 有磷酸化和稳定作用, *Per1*、*2* 促进各种肿瘤抑制蛋白, 如 *Cyclin D1*、*Cyclin A*、*Mdm-2* 和 *Gadd45a* 的表达。*Per1*、*2* 的过度表达可抑制抗凋亡基因 *c-Myc*、*Bcl-X* 和 *Bcl-2* 表达和促进凋亡基因 *p53* 和 *Bax* 的表达, 从而导致肿瘤细胞凋亡的易感性^[22]。相反, *Per1*、*2* 的缺乏或抑制会产生肿瘤细胞的增殖、更强的细胞存活反应、对凋亡的抵抗和肿瘤抑制蛋白包括细胞周期蛋白的降低^[18-23]。在非小细胞肺癌、原发性乳腺癌和结直肠肿瘤患者的标本中, 均发现了低水平的 *Per1*、*2*^[24-25]。

除 *Per1* 外, *Cry*、*Clock* 和其他一些钟基因也已报道与肿瘤生长的调控相关^[26-27, 18]。*Per* 和 *Cry* 的编码基因突变会增加肿瘤发生的危险。编码 CKI-ε 的 *CSNK1E* 基因突变可以反向影响钟基因产

物和 P53 肿瘤抑制蛋白的磷酸化, 改变肿瘤生长的昼夜节律模式。作为时间生物学激素, 褪黑素通过节律同步化作用, 可以抑制肿瘤细胞的增殖和代谢以及组织血管的形成, 从而发挥抑癌功能^[28-30]。

1.3 生物钟与DNA修复

生物钟在昼夜节律进化过程中起着重要的作用。为了修复白天紫外线对皮肤细胞的 DNA 损伤, 需要对 DNA 修复酶的昼夜节律进行精细控制。由于 SCN 钟基因与外周钟基因的时相并不完全一致, 因此, 不同组织中 Cyr/Per 运转规律也可不同。例如, 在 12 h 光 / 暗周期条件下, 小鼠脑组织中 DNA 修复酶的活性和 DNA 切除修复率的峰值发生在 CT/ZT10-14, 而此时脑组织中 *Clock*、*Bmal1*、*Per* 和 *Cry* 的表达则处于谷值时相^[31-32]。

1.4 钟基因控制血管生成

Per2/Cry1 同时还控制着血管内皮细胞生长因子 (VEGF) 促进子活性的昼夜振荡。当 VEGF 产物增加时给予抗血管生成药物, 可以产生最好的治疗效果。采用 26NL-17 结肠癌小鼠, 评价一种脂质体多肽抗血管生成药对 VEGF/ 肿瘤生长昼夜节律的影响。在 12:12 h 光 / 暗周期下, 肿瘤抑制的峰值出现在 ZT14, 而此时血浆中 VEGF 的浓度最低。在另一项实验中, 移植到小鼠体内肿瘤细胞的 VEGF 基因转录水平在 ZT10 和 ZT14 之间下降, 与此同时 *Per1*、*2* 或 *Cry2* 的表达上升, 并与 *BMAL1* 和 *CLOCK* 水平呈反相关系。结果提示 VEGF 蛋白水平的昼夜波动与钟基因 *Per1*、*2* 的节律存在相关联系^[33-34]。

2 时间毒性机制研究

2.1 直接作用于时间结构

目前对毒物时间节律机制的研究主要包括以下几个方面。首先, 毒物直接作用于时间结构 (temporal organizations)。高等动物的时间结构由脑下垂体、松果体、视交叉上核及肾上腺组成。起搏点从这些结构发出振荡信号, 控制体内各种节律的同步性。毒物可直接作用于时间结构本身, 也可作用于其调控途径上的某些环节。如氨基甲酰胆碱可直接作用于视交叉上核, 改变神经功能的时相变化^[35], 而苯丙胺则通过影响中枢神经递质代谢而呈现出较强的夜间毒性^[36]。其次, 化学物在体内吸收排泄和代谢的昼夜节律, 这些节律对毒物毒性大小的影响有时十分明显。一般来说, 吸收快的毒物, 吸收速率易受染毒时间的影响。排泄对时间性毒性的影响被认为

与尿液 pH 的昼夜变化有关。白天尿液的碱性比夜间要强, 故碱性毒物在白天的血浆半减期比夜间要长。昼夜节律也是催化生化反应的酶的特性。已证明肝脏的解毒能力存在着时间性差异, 对多氯联苯、甲基胆蒎等致癌物的研究表明, 由于肝中 P-450 酶系统的活性随时间而变化, 使得这些毒物的毒性受到染毒时间的影响^[37]。

2.2 机体的时间敏感性

生物机体对外界刺激的敏感度有周期性变化。一个生物系统对一种有害物质在一天中的某一时刻可完全不反应, 而在其他时间则可高度敏感, 如受试者对组胺的反应以 23:00 时最强烈, 而在 07:00~11:00 时反应最弱。对青霉素、家尘和其他一些致敏原的试验也发现了相似的节律现象^[38]。在一天中的某些特定时刻暴露于相同浓度的有害化学物, 有可能表现出比其他时间更大的耐受性。因此, 机体对毒物敏感性的时间差异, 有时也以“时间耐受性” (chronotolerance) 来表示^[39]。

机体对毒物的时间敏感性, 还取决于靶器官或靶组织的感受性的昼夜节律。研究表明, 许多毒物并不直接作用于时间结构, 其表现出的时间性毒性是由于受体敏感性的时间差异。乙醇对小鼠毒性的昼夜节律就是这个机制^[40]。心血管系统的 β_1 、 β_2 受体敏感性在时间上不一致, 可解释某些毒物或药物的不同作用节律^[41]。此外, 脑中多巴胺受体也存在昼夜节律的感受性波动^[42]。

2.3 环境同步因子

除了时间结构的内源性控制之外, 还有一些外界同步因子对毒性节律也有一定作用。对大多数动物, 光 - 暗交替是决定性的同步因子, 可影响许多生理和生化代谢节律, 从而影响毒物的解毒和代谢过程。另外, 动物的喂食时间、气候温度以及环境磁场等也都可能是同步因子^[43-44]。对人类来说, 作息制度和社会因素更为重要^[45], 而光 - 暗周期一般只起次要的作用。已知轮班作业以及跨洲际飞行可引起生理功能昼夜节律的紊乱, 从而使患病和对毒物的易感性都大为增加。

3 时间治疗学研究

时间毒理学常常与时间病理学和时间治疗学相互联系。大多数情况下, 疾病的发生或症状的出现都会表现出昼夜性或季节性的节律模式, 如对肿瘤的时间毒理学研究通常从几个方面独立进行, 包括机制研究, 即钟基因如何调控各种致癌基因和抑癌

基因的昼夜节律表达, 怎样控制细胞增殖、DNA损伤和血管形成, 以及是否可增加肿瘤的危险因素等。对化学药物的时间毒理学评价, 可以了解药物释放的时间规律和药物作用的最佳剂量, 通过采用时间治疗学方案来优化药物疗效和减少毒副反应^[46]。

3.1 时间动力学研究

在确定药物的治疗效果时, 需要了解药物代谢、靶器官和机体解毒系统的昼夜节律。应用时间毒理学原则可以减少药物的毒副作用和获得理想的疗效。通过研究, 已经确定了一些化疗药物的最佳给药时间, 如在清晨 4:00 输注 5-氟尿嘧啶和叶酸, 6:00 输注阿霉素, 在下午 16:00 输注草酸铂, 傍晚 16:00~20:00 输注顺铂等^[47-48]。这些临床给药方案可使患者得到较大的毒副作用耐受性和较高的治疗反应率。

在应用化疗药物杀灭肿瘤细胞方面, 时间治疗学与时间毒理学是同义的, 都是研究在昼夜节律模式下药物的毒效应。这涉及到药物在体内的新陈代谢和排泄过程, 即时间动力学。时间动力学研究药物的时间依赖性改变和生物利用度的昼夜节律。从药物的分布、吸收、代谢、组织蓄积到肝肾排泄的昼夜波动。肝脏是药物代谢、生物转化和解毒的主要器官, 其代谢和解毒功能具有明显的昼夜节律性。药物代谢包括 I 相和 II 相反应。I 相反应由 NAPDH- 细胞色素 P450 还原酶 / 细胞色素 P450 系统介导, II 相反应由尿苷 -5'-二磷酸 - 葡萄糖醛酸转移酶等催化结合反应。已知人类的细胞色素 P450s 超过 2 500 个, 包括 18 个家族和 43 个子家族, 控制着多种激素、药物和化学物的代谢。其中 CYP(1~3) 家族发挥着关键性作用, 如 CYP2D6 参与处理众多药物, 包括抗心律不齐药、抗抑郁药、抗精神病药、 β - 阻断剂和镇痛药等的代谢, 而 CYP2E 和 CYP1A2 则参与酒精和咖啡因的代谢^[49-51]。

另一方面, 一些药物 / 化学物通过作用于肝 CYP 系统而改变自身的解毒速率: 如葡萄柚汁可抑制 CYP3A4、CYP2D6 和 CYP2C9, CYP 增强剂可活化 CYP2C8 和 CYP3A4, 而某些疾病, 如先天性青光眼患者中可发生 CYP1B1 基因的变异^[52]。

3.2 解毒酶的钟基因调控

肝脏解毒酶的昼夜节律受到钟基因的控制。钟核受体 ROR- α 和 ROR- γ 在小鼠肝组织中高度表达, 其功能是控制编码 I / II 相代谢酶的基因转录, 浓度峰值出现在 16~24 HALO。在 ROR- α 和 ROR- γ 双敲除小鼠 (DKO) 中, 大多数细胞色素 P450 酶

(*Cyp2b9*、*Cyp2b13*、*Cyp4a*、*Cyp2b*、*Cyp39a1*、*Cyp4a10*、*Cyp3a25*、*Cyp3a41*、*Cyp2c38*、*Cyp3a25*、*Cyp3a41*、*Cyp2c38* *Cyp2a4*、*Cyp3a16*、*Cyp4a1*、*Cyp3a11*、*Cyp2c37*、*Cyp2e1*)、磺基转移酶 (*Sult1d1*、*Sult1a1*、*Sult1c1*、*Sult5a1*、*Sult3a1*) 和谷胱甘肽 S- 转移酶 (*Mgst3*、*Gstm4*、*Gsta1*) 的基因受到抑制^[53]。

钟基因还控制其他一些与视黄酸相关的核受体, 如过氧化物增殖因子活化受体 α (PPAR α)。PPAR α 在肝组织高度表达并调节 I / II 相蛋白, 如 *Cyp4a*-UGT 的节律输出。PPARs 和视黄酸 X 受体 (RXR) 先发生异质二聚体化反应, 然后与 DNA 序列 (过氧化物酶增殖因子激素反应元件) 结合, 开启或关闭基因转录。然而, 与 ROR/Rev-erb 类似, PPAR α /RXR α 也可调节 CLOCK/BMAL1 介导的 *Per* 和 *Cyr* 转录, 因此, PPAR α 激动剂可以引导肝脏和其他组织的昼夜节律。这些发现提示, 代谢酶解毒作用昼夜节律的表达受到配体 - 依赖转录因子核受体的调节, 从而导致药物代谢和化学物毒性昼夜变化的现象^[54-56]。

3.3 药物依时毒性

许多研究表明, 给药时间对于药物的毒性或致死效应有巨大的影响。对小鼠给予同样剂量的抗恶心药枢复宁, 当在 19 HALO 给药时, 死亡率为 50%, 而在 1 HALO 给药时, 没有小鼠死亡。给予小鼠另一种药物氟苯尼考, 与 4 HALO 给药相比, 16 HALO 给药后的毒性增加到 2.5 倍。与此相反, 如果在 17 HALO 时给予西替利嗪 (一种组胺 H1 受体拮抗剂), 动物的生存率与 5 HALO 给药相比大大升高^[57-58]。

4 结语

时间毒理学研究的意义主要有三个方面。第一, 规范毒物毒性的测定和评价。如前所述, 一种毒物的 LD50 值在一天中的不同时间可相差数倍之多, 而机体对各种毒物又没有共同的高敏或低敏时间。因此, 在毒性实验中, 应当规定染毒的时间标准, 在一个实验周期里, 每天应在同一时间染毒, 并注意处理的时间顺序对结果的影响。第二, 通过时间毒理学的研究, 进一步阐明毒作用机制, 为毒物的安全评价提供可靠依据。药物或毒物的毒性效应高度依赖于暴露的时间和体内动力学过程, 这些过程影响化学物的组织分布和吸收、代谢解毒和受体的敏感性。可将人类对某些毒物的时间敏感性差异,

以及中毒发生时间和季节性倾向的资料, 应用于中毒或危害的诊断、调查和防治。例如, 对于一种毒物慢性中毒的调查, 就可根据其毒性节律, 决定一天或一年中最适采样分析的时间, 从而获得较为真实的反映指标。第三, 根据人体生理节律和毒物的时间毒性, 合理安排作息制度和暴露毒物的时间间隔, 在预防医学上具有重大意义。此外, 时间毒理学对于研究生命的时间过程和时空控制模式也有积极的促进作用。

[参 考 文 献]

- [1] Soliman KF, Aazzio E. Chronotoxicology[M]// Ballantyne B, Marrs TC, Syversen T, eds. General and Applied toxicology. Barcelona(Spain):John Wiley and Sons Ltd, 2009: 599-620
- [2] Sánchez-Vázquez FJ, Terry MI, Felizardo VO, et al. Daily rhythms of toxicity and effectiveness of anesthetics (MS222 and eugenol) in zebrafish (*Danio rerio*). Chronobiol Int, 2011, 28(2):109-117
- [3] Ben-Cherif W, Dridi I, Aouam K, et al. Chronotolerance study of the antiepileptic drug valproic acid in mice. J Circadian Rhythms, 2012, 10: 3
- [4] Picco EJ, Díaz DC, Valtorta SE, et al. Chronotoxicology of florfenicol. Chronobiol Int, 2001, 18(3): 567-72
- [5] Kaur G, Phillips C, Wong K, et al. Timing is important in medication administration: a timely review of chronotherapy research. Int J Clin Pharm, 2013, 35(3): 344-58
- [6] Sewlall S, Pillay V, Danckwerts MP, et al. A timely review of state-of-the-art chronopharmaceuticals synchronized with biological rhythms. Curr Drug Deliv, 2010, 7(5): 370-88
- [7] Qin F, Yuan H, Chen L, et al. Chronotoxicology of fenvalerate on the male reproduction system. J Hygiene Res: China, 2012, 41(6): 905-10
- [8] Bruckner JV, Ramanathan R, Lee KM, et al. Mechanisms of circadian rhythmicity of carbon tetrachloride hepatotoxicity. J Pharmacol Exp Ther, 2002, 300(1): 273-81
- [9] Erkekoglu P, Baydar T. Chronopharmacokinetics of drugs in toxicological aspects: a short review for pharmacy practitioners. J Res Pharm Pract, 2012, 1(1): 3-9
- [10] Mazzoccoli G. Circadian variation of immune mechanisms in lung cancer and the role of melatonin [M]// Srinivasan V, Brzezinski A, Oter S, Shillcutt SD, eds. Melatonin and melatonergic drugs in clinical practice. New Delhi: Springer, 2014: 159-70
- [11] Hwang-Verslues WW, Chang PH, Jeng YM, et al. Loss of corepressor PER2 under hypoxia up-regulates OCT1-mediated EMT gene expression and enhances tumor malignancy. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110(30): 12331-6
- [12] Ye H, Yang K, Tan XM, et al. Daily rhythm variations of the clock gene PER1 and cancer-related genes during various stages of carcinogenesis in a golden hamster model of buccal mucosa carcinoma. Onco Targets Ther, 2015, 8: 1419-26
- [13] Reiter RJ, Tan DX, Korkmaz A, et al. Light at night, chronodisruption, melatonin suppression, and cancer risk: a review. Crit Rev Oncog, 2007,13(4): 303-28
- [14] Monsees GM, Kraft P, Hankinson SE, et al. Circadian genes and breast cancer susceptibility in rotating shift workers. Int J Cancer, 2012, 131(11): 2547-52
- [15] Alexander M, Burch JB, Steck SE, et al. Case-control study of the *PERIOD3* clock gene length polymorphism and colorectal adenoma formation. Oncol Rep, 2015, 33(2): 935-41
- [16] Challet E. Entrainment of the suprachiasmatic clockwork in diurnal and nocturnal mammals. Endocrinology, 2007, 148(12): 5648-55
- [17] Arjona A, Sarkar DK. Circadian oscillations of clock genes, cytolytic factors, and cytokines in rat NK cells. J Immunol, 2005, 174(12): 7618-24
- [18] Chen Z, McKnight SL. A conserved DNA damage response pathway responsible for coupling the cell division cycle to the circadian and metabolic cycles. Cell Cycle, 2007, 6(23): 2906-12
- [19] Matsuo T, Yamaguchi S, Mitsui S, et al. Control mechanism of the circadian clock for timing of cell division *in vivo*. Science, 2003, 302(5643): 255-9
- [20] Lin CY, Lovén J, Rahl PB, et al. Transcriptional amplification in tumor cells with elevated c-Myc. Cell, 2012, 151(1): 56-67
- [21] Iurisci I, Filipski E, Reinhardt J, et al. Improved tumor control through circadian clock induction by Seliciclib, a cyclin-dependent kinase inhibitor. Cancer Res, 2006, 66(22): 10720-8
- [22] Cheng AY, Zhang Y, Mei HJ, et al. Construction of a plasmid for overexpression of human circadian gene *period2* and its biological activity in osteosarcoma cells. Tumour Biol, 2015, 36(5): 3735-43
- [23] Yu H. Chk1: a double agent in cell cycle checkpoints. Dev Cell, 2007,12(2):167-8
- [24] Gery S, Komatsu N, Kawamata N, et al. Epigenetic silencing of the candidate tumor suppressor gene *Per1* in non-small cell lung cancer. Clin Cancer Res, 2007, 13(5): 1399-404
- [25] Krugluger W, Brandstaetter A, Kállay E, et al. Regulation of genes of the circadian clock in human colon cancer: reduced period-1 and dihydropyrimidine dehydrogenase transcription correlates in high-grade tumors. Cancer Res, 2007, 67(16): 7917-22
- [26] Gauger MA, Sancar A. Cryptochrome, circadian cycle, cell cycle checkpoints, and cancer. Cancer Res, 2005, 65(15): 6828-34
- [27] Antoch MP, Gorbacheva VY, Vukhovanets O, et al. Disruption of the circadian clock due to the *Clock* mutation has discrete effects on aging and carcinogenesis. Cell Cycle, 2008, 7(9): 1197-204
- [28] Stevens RG, Blasko DE, Brainard GC, et al. The role of environmental lighting and circadian disruption in cancer and other diseases. Environ Health Perspect, 2007, 115(9):

- 1357-62
- [29] Kim SY, Dunn IF, Firestein R, et al. CK1 ϵ is required for breast cancers dependent on β -catenin activity. *PLoS One*, 2010, 5(2): e8979
- [30] Uguz AC, Cig B, Espino J, et al. Melatonin potentiates chemotherapy-induced cytotoxicity and apoptosis in rat pancreatic tumor cells. *J Pineal Res*, 2012, 53(1): 91-8
- [31] Shadan FF. Circadian tempo: a paradigm for genome stability? *Med Hypotheses*, 2007, 68(4): 883-91
- [32] Kang TH, Reardon JT, Kemp M, et al. Circadian oscillation of nucleotide excision repair in mammalian brain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(8): 2864-7
- [33] Ohdo S. Circadian rhythms in the CNS and peripheral clock disorders: chronopharmacological findings on antitumor drugs. *J Pharmacol Sci*, 2007, 103(2): 155-8
- [34] Shimizu K, Sawazaki Y, Tanaka T, et al. Chronopharmacologic cancer treatment with an angiogenic vessel-targeted liposomal drug. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31(1): 95-8
- [35] Pačesová D, Volfová B, Červená K, et al. Acute morphine affects the rat circadian clock via rhythms of phosphorylated ERK1/2 and GSK3 β kinases and Per1 expression in the rat suprachiasmatic nucleus. *Br J Pharmacol*, 2015, 172(14): 3638-49
- [36] Walker CA, Soliman MR, Soliman KF. Chronopharmacology and chronotoxicology of CNS drugs: interrelationships with neuromodulators. *Int J Toxicol*, 1983, 2(6): 359-70
- [37] Kluwe WM, Hook JB. Comparative induction of xenobiotic metabolism in rodent kidney, testis and liver by commercial mixtures of polybrominated biphenyls and polychlorinated biphenyls, phenobarbital and 3-methylcholanthrene: absolute and temporal effects. *Toxicology*, 1981, 20(2-3): 259-73
- [38] Altinok A, Lévi F, Goldbeter A. Identifying mechanisms of chronotolerance and chronoefficacy for the anticancer drugs 5-fluorouracil and oxaliplatin by computational modeling. *Eur J Pharm Sci*, 2009, 36(1): 20-38
- [39] Okyar A, Piccolo E, Ahowesso C, et al. Strain- and sex-dependent circadian changes in abcc2 transporter expression: implications for irinotecan chronotolerance in mouse ileum. *PLoS One*, 2011, 6(6): e20393
- [40] Rosenwasser AM. Chronobiology of ethanol: animal models. *Alcohol*, 2015, 49(4): 311-9
- [41] Doshi BS. Chronopharmacology and optimisation of dosage schedule. *Indian J Physiol Pharmacol*, 1981, 25(3): 253-8
- [42] Naber D, Wirz-Justice A, Kafka MS, et al. Dopamine receptor binding in rat striatum: ultradian rhythm and its modification by chronic imipramine. *Psychopharmacology: Berl*, 1980, 68(1): 1-5
- [43] Olejníková L, Polidarová L, Paušlyová L, et al. Diverse development and higher sensitivity of the circadian clocks to changes in maternal-feeding regime in a rat model of cardio-metabolic disease. *Chronobiol Int*, 2015, 32(4): 531-47
- [44] Vanderstraeten J, Verschaeve L, Burda H, et al. Health effects of extremely low-frequency magnetic fields: reconsidering the melatonin hypothesis in the light of current data on magnetoreception. *J Appl Toxicol*, 2012, 32(12): 952-8
- [45] Thut G, Miniussi C, Gross J. The functional importance of rhythmic activity in the brain. *Curr Biol*, 2012, 22(16): R658-63
- [46] Halberg F, Prem K, Halberg F, et al. Cancer chronomics I. Origins of timed cancer treatment: early marker rhythm-guided individualized chronochemotherapy. *J Exp Ther Oncol*, 2006, 6(1): 55-61
- [47] Ayala DE, Ucieda R, Hermida RC. Chronotherapy with low-dose aspirin for prevention of complications in pregnancy. *Chronobiol Int*, 2013, 30(1-2): 260-79
- [48] Lévi F. The circadian-timing system: a determinant of drug activity and a target of anticancer treatments. *Ann Pharm Fr*, 2008, 66(3): 175-84
- [49] Nelson DR. Comparison of P450s from human and fugu: 420 million years of vertebrate P450 evolution. *Arch Biochem Biophys*, 2003, 409(1): 18-24
- [50] Diaz Gómez MI, Fanelli SL, Delgado de Layño AM, et al. Liver nuclear and microsomal CYP2E1-mediated metabolism of xenobiotics in rats chronically drinking an alcohol-containing liquid diet. *Toxicol Ind Health*, 2006, 22(9): 367-74
- [51] Kot M, Daniel WA. Caffeine as a marker substrate for testing cytochrome P450 activity in human and rat. *Pharmacol Rep*, 2008, 60(6): 789-97
- [52] Firasat S, Riazuddin SA, Khan SN, et al. Novel CYP1B1 mutations in consanguineous Pakistani families with primary congenital glaucoma. *Mol Vis*, 2008, 14: 2002-9
- [53] Kang HS, Angers M, Beak JY, et al. Gene expression profiling reveals a regulatory role for ROR α and ROR γ in phase I and phase II metabolism. *Physiol Genomics*, 2007, 31(2): 281-94
- [54] Nakamura K, Inoue I, Takahashi S, et al. Cryptochrome and period proteins are regulated by the CLOCK/BMAL1 gene: crosstalk between the PPARs/RXR α -regulated and CLOCK/BMAL1-regulated systems. *PPAR Res*, 2008, 2008: 348610
- [55] Canaple L, Rambaud J, Dkhissi-Benyahya O, et al. Reciprocal regulation of brain and muscle Arnt-like protein 1 and peroxisome proliferator-activated receptor α defines a novel positive feedback loop in the rodent liver circadian clock. *Mol Endocrinol*, 2006, 20(8): 1715-27
- [56] Chen L, Yang G. PPARs integrate the mammalian clock and energy metabolism. *PPAR Res*, 2014: 653017
- [57] Khedhaier A, Ben Attia M, Gadacha W, et al. Circadian rhythms in toxic effects of the serotonin antagonist ondansetron in mice. *Chronobiol Int*, 2003, 20(6): 1103-16
- [58] Dridi D, Ben Attia M, Reinberg A, et al. Circadian rhythms in the toxic effects of the histamine antagonist cetirizine in mice. *Pathol Biol: Paris*, 2005, 53(4): 193-8