

## **ИНВЕРСИЯ ЦИКЛА «ДЕНЬ/НОЧЬ» КАК ФАКТОР ДИСРЕГУЛЯЦИИ ГОМЕОСТАЗА: ОСОБЕННОСТИ ПАТОГЕНЕЗА И ПУТИ КОРРЕКЦИИ.**

### **Соответствие проекта тематике заявленной научной платформы**

Установленная в природе цикличность биологических процессов проявляется в организме человека определенной внутренней организацией суточной динамики работы жизненно важных органов и систем. Внутренняя регуляция циркадных ритмов сердечно-сосудистой, нервной,

эндокринной, других органов и систем осуществляется посредством: а) супрахиазмального ядра гипоталамуса (СХЯ), в котором расположены способные к самоосцилляции центры суточной активности, и эпифиза, в котором синтезируется мелатонин, б) активности периферических осцилляторов, обнаруживаемых в абсолютном большинстве клеток и органов, в том числе сердечно-сосудистой и эндокринной систем. Независимо от того, являются ли эти регуляторы белками или небелковыми соединениями (например, мелатонин), их биоритмичность обусловлена действием определенных генов, запускающих и поддерживающих ритм циркадных биологических часов. Экспрессия этих генов обеспечивает активацию генов, регулирующих гомеостаз. Таким образом, изменение образа жизни, при котором максимум физической и /или интеллектуальной приходится на ночные часы может являться фактором нарушения гомеостаза, причиной нарушения гормональной и иммунной активности

Деление гуморальных регуляторов на гормоны и негормональные факторы целесообразно, но в то же время это разграничение условно. Отличить гормон от прогормона, гормон от гистогормона, гормон от внутриклеточного регулятора бывает не всегда просто, поскольку существует ряд соединений, занимающих «пограничное» положение. Кроме того действие многих негормональных факторов тесно связано с реализацией гормональных эффектов на клетки. Поэтому платформой, которую мы выбрали для нашего проекта, является эндокринология. Хотя на самом деле, чтобы полностью понять механизмы поддержания гомеостаза необходимо комплексно рассматривать процессы гормональной, нервной и иммунной регуляции.

Мы предполагаем, что инверсия цикла «день/ночь», частным случаем которой является сменный характер трудовой деятельности, нарушает регуляцию нейроэндокринной, иммунной систем, что ведет к нарушению гомеостаза и способствует формированию соматической и психической патологии, снижая качество жизни и уменьшая ее продолжительность.

**Цель:** установить особенности нарушений гомеостаза в условиях длительной инверсии цикла «день/ночь»; с учетом новых данных, полученных в результате исследования, усовершенствовать коррекцию и профилактику нарушений.

### **Задачи:**

- 1) Изучить суточный ритм секреции мелатонина у медицинских работников в условиях инверсии цикла «день/ночь»
- 2) Оценить состояние врожденного и приобретенного иммунитета медицинских работников в условиях инверсии цикла «день/ночь»
- 3) Провести исследование нервно-психического состояния у медицинских работников в условиях инверсии цикла «день/ночь»
- 4) Изучить суточный ритм секреции гормонов с циркадным характером выработки у медицинских работников в условиях инверсии цикла «день/ночь»

- 5) Определить взаимосвязи между измененной секрецией мелатонина и изменением состояния иммунной системы при инверсии цикла «день/ночь»
- 6) Выявить взаимосвязи между извращенной секрецией мелатонина при инверсии цикла «день/ночь» и секрецией гормонов
- 7) Разработать концепцию срыва адаптации нейроиммуноэндокринной системы в условиях инверсии цикла «день/ночь»

### **Актуальность исследования**

Человечество как биологический вид сформировалось в условиях строгой синхронизации внутренних процессов с условиями внешней среды. Главным внешним синхронизатором является свет, вернее его отсутствие. В темноте происходит активация супрахиазмальных ядер, которые стимулируют эпифиз, продуцирующий мелатонин, главный внутренний синхронизатор. Мелатонин вызывает ритмическую экспрессию «генов часов» (Clock/Bmal) в периферических органах через свои рецепторы ( $M_1$ ,  $M_2$ ,  $NMR_s$ ) и осуществляет синхронизацию физиологических процессов организма человека с условиями окружающей среды путем воздействия на метаболизм (гомеостаз глюкозы, синтез липидов, адипогенез) и гемодинамические показатели (артериальное давление (АД), прокоагулянтная активность).

Мелатонин, взаимодействуя со своими ядерными рецепторами вызывает экспрессию генов времени, которые обнаружены практически во всех тканях и органах, и переводит все виды обмена, синтез гормонов, работу иммунной системы в режим активной деятельности. Около 10% всех клеток нашего организма работают в циркадном ритме. Более того, каждый орган имеет свой собственный и специфично отрегулированный циркадианный ритм, который определяется генной экспрессией.

Энергия фотонов света активирует рецепторы сетчатки, которые блокируют супрахиазмальные ядра гипоталамуса и, следовательно, функционирование эпифиза.

Таким образом, постоянное влияние света на сетчатку в ночной период вызывает нарушение синтеза мелатонина, что должно неизбежно сказаться на биологических реакциях индивидуума.

Достижения научно-технического прогресса привели к тому, что в настоящее время свет присутствует в нашей жизни практически постоянно и не подвержен сезонным и суточным колебаниям. Под воздействием искусственного освещения нарушается циклическая смена активности симпатической и парасимпатической систем, снижается выработка мелатонина, что приводит к повышению плазменного уровня глюкозы, триглицеридов, возрастанию АД и ускорению сердечного ритма.

Таким образом, длительное воздействие света в ночное время обуславливает хроническое нарушение метаболизма, которое спустя многие годы проявляется такими «болезнями цивилизации» как ожирение, инсулиновая резистентность и артериальная гипертензия.

Работа в ночные смены является частным случаем инверсии цикла «день/ночь» и вероятно должна влиять на гомеостаз организма. Впервые эта проблема была поставлена английскими учеными в 2001 году, которые провели изучение метаболических параметров у членов антарктической экспедиции, которые находились в одинаковых условиях и получали одинаковое питание. Результаты подтвердили первичную гипотезу (Lundi J., 2001)..

Далее эта проблема изучалась японскими учеными, которые также выявили нарушения метаболизма у рабочих ночных смен (Morimoto A., 2008).

Апогеем в исследованиях о влиянии ночных смен на метаболизм явилось исследование бельгийских ученых которое проводилось в течение 6 лет (Bacquers D., 2009).

Практически все исследователи полагают, что нарушения, возникающие при работе в ночные смены, связаны, в основном, с измененной секрецией мелатонина. Однако вид изменения секреции остается до сих пор неясным. Полученные экспериментальные и клинические данные зачастую противоречат друг другу, что является основанием для проведения планируемого исследования. (Баллюзек М.Ф., Гриненко Т.Н., Кветная Т.В., 2009; Korkmaz A. et al., 2009, Robeva R. et al., 2008). (Burton W.N. et al., 2008; Sánchez-Chaparro M.A. et al., 2008).

С другой стороны существуют работы, в которых показано влияние мелатонина на секрецию гормонов. Так, мелатонин воздействует на надпочечники, ингибируя синтез кортизола в ответ на стимуляцию адренокортикотропным гормоном (АКТГ) (Campino C, Valenzuela FJ, Torres-Farfan C, 2011). Влияние мелатонина на синтез тиреотропного гормона остается недоказанным, несмотря на существование отдельных исследований, выявивших данное взаимодействие (Bartsch C, Bartsch H, Fuchs U, 1989). Что касается пролактина, то существуют работы, которые доказали связь секреции мелатонина с секрецией пролактина (Viganò D, Lissoni P, Rovelli F, 2001).

Мелатонин является ответственным за подавление синтеза фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов в допубертатный период (Shorer Z, Bachner Y, Guy T, 2013). Однако весомых доказательств влияния мелатонина на синтез половых стероидов в период половой зрелости на сегодняшний день не существует.

Мелатонин способствует увеличению синтеза гормона роста (Redwine L, Hauger RL, Gillin JC, 2000, Shorer Z, Bachner Y, Guy T, Melzer I - J. Gerontol, 2013).

Таким образом, существуют доказательства влияния мелатонина на синтез гормонов гипофиза. Из этого факта можно сделать вывод о регулирующем влиянии мелатонина на функционирование эндокринной системы.

Второй важной функцией мелатонина является его участие в регуляции метаболизма. Феномен регулирующего влияния мелатонина на плазменный уровень глюкозы доказан несколькими фактами. Во-первых, при удалении эпифиза исчезают нормальные суточные изменения глюкозы, то есть ее уровень не возрастает перед пробуждением и не снижается в ночное время (Reiter R.J., Tan D.X., Korkmaz A., 2009). Во-вторых, разрушение супрахиазмальных ядер гипоталамуса приводит к уменьшению продукции мелатонина, что нарушает гомеостаз глюкозы (la Fleur S.E. et al., 2001). В-третьих, открыт механизм, посредством которого эпифизарный гормон влияет на инсулиновую чувствительность. Этот механизм заключается в следующем. Клеточные мембраны, гепатоцитов и адипоцитов имеют рецепторы к мелатонину. При взаимодействии со своими рецепторами мелатонин фосфорилирует тирозинкиназу. Инсулин взаимодействует со своими рецепторами аналогично, активируя переносчиков глюкозы. Таким образом, количество внутриклеточной тирозинкиназы увеличивается, соответственно влияя на плазменный уровень глюкозы. Следовательно, уровень мелатонина определяет чувствительность печени и жировой ткани к инсулину (Anhe G.F. et al., 2004; Mühlbauer E. et al., 2009). Жировая ткань находится в особых отношениях с мелатонином. Выше уже описывалось, что адипоциты содержат собственные, вполне независимые гены часов, экспрессию которых определяет мелатонин, и соответственно деятельность жировых клеток меняется в зависимости от времени суток. Этот регулирующий механизм истощается при ожирении, что дает основание связывать изменение чувствительности внутриклеточного часового механизма адипоцитов с увеличением внутриклеточного жира (Ando H. et al., 2005).

В эксперименте Rasmussen D.D. и соавторы показали, что постоянное применение мелатонина подавляет накопление абдоминального жира у крыс среднего возраста (Rasmussen D.D. et al., 1999). Данное исследование было спланировано, как исследование в перекрестных группах. Первая группа (группа А) крыс получала мелатонин. По прошествии 12-ти недель у этих животных наблюдалось снижение концентрации инсулина и лептина, снижение массы тела, с преимущественным уменьшением интраабдоминального жира, возрастание температуры тела и физической активности. Далее животным этой группы мелатонин отменяли, а согласно методике перекрестных групп назначали животным (группа Б), которые до этого не получали изучаемое вещество. В результате через 12 недель отмечено увеличение веса у крыс, не получавших мелатонин, в то время как получавшие продемонстрировали изменения, аналогичные изменениям в группе А. Таким образом, была показана тесная связь между уровнем мелатонина и абдоминальным ожирением (Rasmussen D.D. et al., 1999; Wolden-Hanson T. et al., 2000). Кроме того, важно отметить, что показатели липидного обмена крыс, получавших мелатонин, приблизились к аналогичным показателям крыс более молодого возраста. Полученные результаты дают основание предположить, что ассоциированное с возрастом снижение мелатонина уменьшает физическую активность, инсулиновую чувствительность и приводит к росту инсулинорезистентности, накоплению подкожно-жировой клетчатки в абдоминальной области и развитию метаболического синдрома (Wolden-Hanson T. et al., 2000).

Третьей функцией эпифизарного гормона является его участие в регулировании процессов иммунного ответа. Так, мелатонин, гормон роста, пролактин и лептин оказывают удивительное синергическое действие на иммунную систему. Они активируют провоспалительные сигналы, которые поддерживают активацию иммунных клеток, пролиферацию, дифференцировку и производство провоспалительных цитокинов, ИЛ -1, ИЛ-12, ФНО - $\alpha$  и Th1 цитокинов, интерферонов- $\gamma$ . Кортизол и катехоламины, как правило подавляют эти иммунные функции, активируя противовоспалительные компоненты (Besedovsky NO, Rey A, 1996). Многочисленные эксперименты показали, последовательность эндокринных и иммунных ритмов, отражающих «воспалительный пик» во время ночного сна, тогда как бодрствование связано с распространенной противовоспалительной активностью (Lange T, 2010; Scheff JD, Calvano SE, 2010; Straub RH, Cutolo M, 2007)

Помимо этого, существуют немногочисленные экспериментальные работы, в которых упоминается, что изменения циркадианных ритмов могут воздействовать на компоненты врожденного иммунитета. (Luciana Besedovsky, Tanja Lange, 2012). Циркадианные ритмы влияют на иммунные маркеры, например на ИЛ-2, ИЛ-10, ГМ-КС (фактор, стимулирующий колонии макрофагов – гранулоцитов), С-С рецептор хемокина 2, ИЛ-6, ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , интерферон- $\gamma$ ), а также играют определенную роль в регуляции воспаления. Также появились доказательства, пока полученные в эксперименте об улучшении под влиянием мелатонина гуморального и клеточного иммунитета (Vishwas DK, Mukherjee A, Halder S, 2013). Тем не менее, в целом остается неизвестна специфика влияния циркадианных нарушений и извращенной секреции мелатонина на работу иммунной системы. В предстоящем исследовании мы впервые планируем представить доказательства, которые подтвердят, что нарушения циркадианных ритмов и секреции мелатонина значительно влияет на активность иммунитета, как врожденного, так и приобретенного.

Таким образом, анализ современных литературных данных позволяет предположить с одной стороны наличие у мелатонина регулирующих функций по отношению к различным звеньям гомеостаза, а с другой – нарушение секреции этого гормона в условиях инверсии цикла «день/ночь». Следовательно, вполне логично предположить следующую патофизиологическую концепцию: инверсия цикла «день/ночь» приводит к хроническому изменению синтеза мелатонина, что в свою очередь приведет к изменению функционирования эндокринной, иммунной систем и нарушениям метаболизма, и в конечном счете реализуется в заболевание. Для предотвращения этого события необходимо выявлять, корректировать и профилактировать ранние нарушения, что позволит отсрочить возникновение заболевания или предотвратить его.

### **Научный коллектив**

1) Джериева Ирина Саркисовна – д.м.н., профессор, врач-эндокринолог. Осуществляет свою практическую и научную деятельность на базе ГБОУ ВПО РостГМУ Минздрава России, кафедре внутренних болезней с основами общей физиотерапии №3  
Контактные данные:

e-mail: [dgerieva@yandex.ru](mailto:dgerieva@yandex.ru)

телефон: 89064186315

2) Фоменко Анастасия Игоревна- интерн кафедры внутренних болезней с основами общей физиотерапии №3 ГБОУ ВПО РостГМУ Минздрава России

e-mail: [na.fom@mail.ru](mailto:na.fom@mail.ru)

телефон:89064157380

3) Котова Анастасия Алексеевна – студентка 6 курса ГБОУ ВПО РостГМУ Минздрава России

e-mail: [kotik-nastia@ya.ru](mailto:kotik-nastia@ya.ru)

телефон: 89515075833

Привлечение студентов и интернов к данному проекту позволяет использовать их творческий и трудовой потенциал для решения поставленных задач и достижения научного прогресса. А так же содействует повышению качества их профессиональной подготовки, как молодых специалистов, приобретению навыков работы в научно-исследовательских проектах

### **Финансовая модель**

	Наименование	Сумма, рубли
11	Приобретение предметов снабжения и расходных материалов	1 850 000
22	Приобретение и модернизация оборудования и предметов длительного пользования	800 000
33	Прочие текущие расходы на закупки товаров и оплату услуг, в т.ч. оплата услуг научно-исследовательских организаций (лабораторий)	1 400 000
44	Командировки и служебные разъезды	200 000
55	Оплата труда	750 000

Итого:	5 000 000
--------	-----------

Общий план работ на весь срок выполнения проекта :

### 1 этап

- Разработать форму информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с принципами GCP
- Получить одобрение локального этического комитета ГБОУ ВПО РостГМУ Минздрава России на проведение исследования
- Сформировать группу участников (n=100):
- Разработать критерии включения и исключения

**2 этап** – оценка состояния медицинских работников после окончания работы в ночную смену и в период свободный от ночных смен (отпускной период)

- 1) Антропометрические данные
- 2) Общий анализ крови; определение соотношения нейтрофилы/лимфоциты/моноциты. СОЭ, СРБ, белковые фракции сыворотки крови (g-глобулины)
- 3) Исследование иммунного статуса (врожденный и приобретенный иммунитет)
  - Оценка состояния врожденного иммунитета:  
определение CD14+ 282+(Toll2); CD14+ 284(Toll4);  
дефензинов, лактоферрина;  
CD14+ HLA DR+, CD 16+ 25+, CD 16+95+, CD16+HLA DR+,  
секреторного IgA, неоптерин
  - Оценка состояния приобретенного иммунитета:  
CD3, 4, 8, 16, 19, Th1, Th2, НСТ-тест, сывороточные Ig (A, M, G), гранзимы (CD8 Gr+, CD 6 Gr+)
  - Оценка ранней активации иммунитета:  
CD3+ 25+  
CD4+ 25+  
CD4+ 25+ Foxp3+  
CD8+ 25+
  - Оценка поздней активации:  
CD3+ HLA DR+  
CD4+ HLA DR+  
CD8+ HLA DR+  
CD3+ CD95+
  - Определение цитокинов ( ИЛ4, ИФ  $\gamma$  , ФНО)
  - *Оценка дифференцировки лимфоцитов*
- 4) Исследование суточной секреции мелатонина
- 5) Исследование суточного ритма секреции гормонов с циркадным характером выработки
  - Оценка секреции центральных гормонов  
АКТГ, СТГ, мелатонин , ФСГ, ЛГ, ТТГ, пролактина

- Оценка секреции периферических гормонов

Кортизол, инсулин, тестостерон, секссвязывающий глобулин, лептин, T3, T4, инсулиновый фактор роста

6) Исследование клинически значимых показателей углеводного обмена: пре- и постпрандиальный уровни глюкозы, пероральный глюкозотолерантный тест

7) Исследование клинически значимых показателей липидного обмена: уровня липидов (общего холестерина; триглицеридов; холестерина ЛПВП; холестерина ЛПНП; аполипопротеин В, аполипопротеин А1, липопротеин (а)) и их соотношение

8) Оценка клинически значимых показателей гемодинамики: АД, пульс

**3 этап** – Профилактический прием испытуемыми препарата мелатонина замедленного высвобождения

**4 этап** - Повторная оценка всех ранее обозначенных параметров

**5 этап** – Статистическая обработка данных: многофакторный корреляционно-регрессионный анализ

I и II этапы необходимо выполнить в течении первых двух лет исследования. В течение каждого трех месяцев планируется комплексное обследование, включающее рутинные клинические и биохимические лабораторные тесты, а также исследование суточной секреции мелатонина, гормонов с циркадным характером выработки, параметров врожденного и приобретенного иммунитета у 10 медицинских работников с инверсией цикла «день/ночь». Комплексное обследование планируется провести дважды: непосредственно после окончания ночной рабочей смены и после отпускного периода. После завершения обследования участникам каждой группы рекомендовать профилактический курс приема препарата экзогенного мелатонина с замедленным высвобождением, и затем повторно оценить ранее обозначенные параметры.

### **Конкурентные преимущества проекта и инновационность**

Проект соответствует одному из ведущих научных направлений в медицине и хронобиологии.

Впервые будет проведена комплексная оценка различных иммунных и эндокринных агентов, имеющих циркадный характер регуляции у работающих по сменному графику. Подобный анализ позволит выявить закономерности влияния инверсии цикла «день/ночь» на формирование нарушений гомеостаза.

Новые научные знания, позволят разработать и использовать патофизиологически обоснованные методы коррекции нарушений гомеостаза, лежащие в основе таких заболеваний как артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца и онкологическая патология. Широкий ряд профилактических мероприятий будет способствовать нивелированию нарушений, связанных с трансформацией образа жизни современного человека. Это определяет высокую социально-экономическую значимость проекта.

У авторов проекта имеется опыт проведения исследований в заданном научном направлении, так как было проведено обследование 1903 работников промышленных предприятий г. Ростова-на-Дону.

#### **Информация о профильных публикациях, грантах, соисполнителях**

1. Dzherieva IS, Volkova NI, Rapoport SI. Melatonin as a regulator of metabolism. Klin Med (Mosk). 2012;90(10):27-30 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23285758> )
2. Dzherieva iS, Volkova NI, Rapoport SI. Melatonin and metabolic syndrome: is there an association? Ter Arkh. 2012;84(10):109-12 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23227512> )
3. Depressive disorders in males with metabolic syndrome// Journal of Biomedical and clinical research.-2011.-Vol 4, №1/ -P. 46-49
4. Джериева И.С., Волкова Н.И., Рапопорт С.И. Способ лечения метаболического синдрома: пат. 2457834 Рос.Федерация: МПК7 А61К31/175, А61К31/4045, А61Р5/50, А61Н1/00, А23Л1/29 - № 201124259/15; заявл. 15.06.11; опубл. 10.08.12
5. Джериева И.С., Волкова Н.И. Циркадные ритмы и факторы развития сердечно-сосудистых катастроф// Мелатонин: перспективы применения в клинике/ под.ред. С.И. Рапопорта. – М.:ИМА-ПРЕСС, 2012- С 119-124
6. Dzherieva I., Volkova N Changing melatonin level did not define the pattern of nocturnal hypertension?// ENDO 2014, Chicago, june
7. Dzherieva I., Panfilova N Relationship between leptin, melatonin, insulin// ENDO 2012, Huston, june
8. Джериева И.С., Волкова Н.И. оценка риска развития ИБС у больных СД 2 типа с разными способами его коррекции// VI Эндокринологический конгресс, май 2012, г. Москва
9. Джериева И.С., Волкова Н.И. Комплаентность пациентов к немедикаментозной коррекции артериальной гипертензии// VII Национальный конгресс терапевтов
10. Джериева И.С., Волкова Н.И., Раппопорт С.И., Серопян К.Г., Амбирбеков Б.Г. Влияние характера трудовой деятельности на формирование артериальной гипертензии// II Российский съезд по хронобиологии и хрономедицине с международным участием, ноябрь, 2012, г. Москва