

DOI: <https://doi.org/10.51922/2616-633X.2021.5.2.1344>

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ MTNR1B И CYP1A1 С УРОВНЕМ МЕЛАТОНИНА И РИСКОМ РАЗВИТИЯ СИНДРОМА ОБСТРУКТИВНОГО АПНОЭ ВО СНЕ

В.И. Шишко, О.А. Карпович, В.А. Снежицкий, И.А. Курстак

УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь
E-mail: olesjakarpovich@rambler.ru

УДК 612.284.2: 575.174.015.3

Ключевые слова: синдром обструктивного апноэ во сне, 6-сульфатоксимелатонин, 6-COMT, рецепторы мелатонина, MT2-рецепторы, полиморфизм MTNR1B, цитохром P450, CYP1A1.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ. В.И. Шишко, О.А. Карпович, В.А. Снежицкий, И.А. Курстак. Ассоциация полиморфизмов генов MTNR1B и CYP1A1 с уровнем мелатонина и риском развития синдрома обструктивного апноэ во сне. *Неотложная кардиология и кардиоваскулярные риски*, 2021, Т. 5, № 2, С. 1344–1350.

Цель. Изучить распространённость полиморфных вариантов гена MTNR1B и локуса C6310T гена CYP1A1 у пациентов с синдромом обструктивного апноэ сна (СОАС) и провести анализ их ассоциации с уровнем мелатонина и риском развития СОАС.

Материалы и методы. Обследованы 40 человек с СОАС и 46 человек контрольной группы. Для выявления СОАС проводился респираторный мониторинг. Уровень мелатонина оценивали по содержанию 6-сульфатоксимелатонина в моче. Генотипирование образцов ДНК выполнено методом ПЦР-РВ.

Результаты. У пациентов с СОАС достоверно чаще встречается генотип CC MTNR_{1B} ($\chi^2 = 9,05$, $p = 0,003$). Носители генотипа CC в сравнении с носителями генотипов CG или GG характеризуются более высоким уровнем 6-сульфатоксимелатонина в суточной моче (87,14 (46,62; 127,34) и 39,28 (10,83; 85,92), $p = 0,0040$) и дневной её порции (100,32 (49,55; 166,64)

и 64,94 (24,05; 93,02), $p = 0,018$). Установлено наличие положительных связей между носительством генотипа CC и уровнем 6-сульфатоксимелатонина в суточной моче ($r = 0,56$, $p = 0,00001$), в дневной моче ($r = 0,43$, $p = 0,0011$), а также индексом апноэ/гипопноэ ($r = 0,33$, $p = 0,01$). Не выявлено значимых различий частоты встречаемости различных генотипов полиморфного локуса C6310T гена CYP1A1 у пациентов с СОАС и без него ($\chi^2 = 0,42$, $p = 0,52$). Анализ уровня 6-сульфатоксимелатонина в зависимости от выявленного полиморфизма гена CYP1A1 также не выявил значимых различий.

Выводы. Риск наличия СОАС у носителей генотипа CC в 4,10 раз выше в сравнении с носителями генотипов CG и GG гена MTNR_{1B} (95% ДИ: 1,65-10,21). Носительство генотипа CC ассоциировано с более высоким уровнем 6-сульфатоксимелатонина. Повышение уровня 6-сульфатоксимелатонина у пациентов с СОАС не связано с особенностями метаболизма этого гормона в системе цитохрома P450.

THE ASSOCIATION OF THE MTNR1B AND THE CYP1A1 GENE POLYMORPHISMS WITH THE LEVEL OF MELATONIN AND THE RISK OF OBSTRUCTIVE SLEEP APNEA/HYPOPNEA SYNDROME DEVELOPMENT

V.I. Shyshko, A.A. Karpovich, V.A. Snezhitskiy, I.A. Kurstak

Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

Key words: obstructive sleep apnea syndrome, 6-sulfatoxymelatonin, melatonin receptors, polymorphisms MTNR1B, cytochrome P450.

FOR REFERENCES. V.I. Shyshko, A.A. Karpovich, V.A. Snezhitskiy, I.A. Kurstak. The association of the MTNR1B and the CYP1A1 gene polymorphisms with the level of melatonin and the risk of obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome development. *Neotlozhnaya kardiologiya i kardiovaskulyarnye riski* [Emergency cardiology and cardiovascular risks], 2021, vol. 5, no. 2, pp. 1344–1350.

Purpose. To study the prevalence of polymorphic variants of the MTNR1B gene and C6310T locus of the CYP1A1 gene in patients with obstructive sleep apnea syndrome (OSAS) and to analyze their association with melatonin levels and the risk of OSAS development.

Patients and methods. We examined 40 patients with OSAS and 46 controls. To diagnose OSAS the respiratory monitoring was performed. The level of melatonin was assessed by the quantity of urinary 6-sulfatoxymelatonin. Genotyping of DNA samples was performed using Real-time PCR.

Results. OSAS patients showed statistically significant occurrence of genotype CC MTNR1B ($\chi^2 = 9.05$, $p = 0.003$). CC genotype carriers exhibit higher level of 6-sulfatoxymelatonin in 24-hour urine as compared to CG or GG genotype carriers (87.14 (46.62; 127.34) vs 39.28 (10.83; 85.92), $p = 0.0040$), and in daily urine (100.32 (49.55; 166.64) vs 64.94 (24.05; 93.02), $p = 0.018$). Positive

association between CC carrier status and the level of 6-sulfatoxymelatonin in 24-hour urine ($r = 0.56$, $p = 0.00001$), in daily urine ($r = 0.43$, $p = 0.0011$), as well as the apnea/hypopnea index ($r = 0.33$, $p = 0.01$) was established. No statistically significant differences in the incidence of various genotypes of C6310T polymorphic locus of the CYP1A1 gene in patients with OSAS and without the syndrome were found ($\chi^2 = 0.42$, $p = 0.52$). The analysis of 6-sulfatoxymelatonin level in relation to the revealed the CYP1A1 polymorphism did not show any significant differences either.

Conclusion. The risk of OSAS in CC carriers is 4.10-fold higher as compared to CG and GG carriers of the MTNR1B gene (CI 95% 1.65-10.21). CC carrier status is associated with higher level of 6-sulfatoxymelatonin. The increase in 6-sulfatoxymelatonin level in OSAS patients is not related to the peculiarities of this hormone metabolism in cytochrome P 450 system.

Актуальность

Синдром обструктивного апноэ сна (СОАС) является распространённым состоянием, которое характеризуется повторяющимся ограничением воздушного потока на уровне верхних дыхательных путей, что приводит к снижению оксигенации крови и последующим пробуждениям. Распространённость СОАС различается в зависимости от пола и возраста и составляет 13% у мужчин и 6% у женщин в возрасте 30–70 лет [1, 2]. Данные недавнего литературного обзора свидетельствуют о том, что во всём мире около 1 млрд человек в возрасте 30–69 лет имеют СОАС от лёгкой до тяжёлой степени. В некоторых странах его распространённость превышает 50% [3]. Таким образом, СОАС становится серьёзным бременем для общественного здравоохранения и связан с важными медицинскими последствиями, такими как повышение риска ишемической болезни сердца, аритмий, застойной сердечной недостаточности, церебральных заболеваний [4].

Некоторые исследования последних лет указывают на нарушения синтеза мелатонина у пациентов с СОАС, характеризующиеся снижением его выработки в ночные часы, либо смещением ночной фазы синтеза этого гормона на дневные часы (т.н. синдром циркадного смещения) [5]. Циркадный ритм синтеза мелатонина, синхронизированный с циклом день/ночь и ограниченный продолжительностью ночи, делает этот индоламин внутренним регулятором, который контролирует физиологию организма в течение 24 часов [6, 7]. В результате нарушения суточной ритмики синтеза мелатонина происходит сбой биологических циркадных ритмов организма, вызывающий различные нарушения обмена веществ и деятельности всех систем организма [8]. У млекопитающих (и человека) эффекты мелатонина опосредуются двумя гомологичными рецепторами, связанными с G-белками: MT₁ (MTNR1A) и MT₂ (MTNR1B) [9]. Ещё один синдром, связанный с нарушением синтеза мелатонина, обусловлен тем, что можно назвать несоответствующим ответом, опосредованным че-

рез рецепторы мелатонина. Эта дисфункция обычно является следствием генетических изменений рецепторов мелатонина (например, однонуклеотидных полиморфизмов) и влияет на рецепторы MT₁ и MT₂ [10].

Недавно было идентифицировано, что ген MTNR1B оказывает существенное влияние на динамику секреции и передачу сигналов мелатонина. Так, A. Bonnefond et al. показали, что мутации в вариантах MTNR1B, связанные с полной или частичной потерей функции рецептора, способствовали развитию сахарного диабета 2 типа [11].

Ген MTNR1B располагается на длинном (q) плече 11 хромосомы (11q14.3) на участке q21-q22 и кодирует одну из высокоаффинных форм рецептора мелатонина (из NCBI Gene). Кроме того, генотип MTNR1B также ассоциировался с ожирением [12], которое является одним из основных факторов риска СОАС [13].

Таким образом, представляется интересным изучить ассоциацию вариантов гена MTNR1B, связанного с циркадным ритмом, с особенностями продукции мелатонина у пациентов с СОАС. Кроме того, полиморфные варианты гена рецептора MTNR1B также могут быть ассоциированы с риском развития апноэ сна.

Биотрансформация мелатонина у млекопитающих осуществляется ферментами системы цитохром P450 (CYP₄₅₀) при участии изоферментов семейства CYP1: CYP1A1 и CYP1A2. Дегградация мелатонина в клетках печени начинается с окисления до 6-гидроксимелатонина системой CYP450, а затем происходит сульфатирование до 6-сульфатоксимелатонина (6-SOMT), который выделяется с мочой [14]. Ген CYP1A1 расположен на 15 хромосоме на участке q22–q24, экспрессируется преимущественно в печени и в легких. В научной литературе представлен материал, демонстрирующий влияние изменений первичной структуры гена CYP1A1 на активность ферментов системы цитохрома P450: замена изолейцина на валин в аминокислотной последовательности каталитического центра фермента приводит к продукции энзимов с активностью в 2 раза выше исходной [15].

Таким образом, логично предположить, что полиморфизм С6310Т гена СYP1A1, участвующий в метаболизме гормонов, может существенно влиять на уровень мелатонина у пациентов с СОАС.

Цель

Изучить распространённость полиморфных вариантов гена MTNR1B и локуса С6310Т гена СYP1A1 у пациентов с СОАС и провести анализ их ассоциации с уровнем мелатонина и риском развития СОАС.

Материалы и методы

Участники исследования были набраны из числа пациентов, находившихся на лечении в кардиологическом и терапевтическом отделениях УЗ «ГКБ № 2 г. Гродно». Выборка была сформирована согласно критериям включения и невключения. Для включения в исследование все пациенты подписывали добровольное согласие на участие. Проведение исследования было одобрено Комитетом по биомедицинской этике учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет».

В выборку не включались пациенты при наличии следующих факторов: заболевания и состояния, которые могли бы исказить уровни и циркадный ритм мелатонина, повлиять на его распад и выделение с мочой, приём снотворных, антидепрессантов и препаратов, содержащих мелатонин, работа в ночную смену.

С целью выявления СОАС проводился респираторный мониторинг с помощью системы SOMNOchek micro, производства Weinmann (Германия). Прибор регистрировал 4 показателя: носовой поток воздуха, храп, пульс и насыщение крови кислородом, что позволяет выявлять СОАС и оценивать степень его тяжести [16, 17]. Мониторинг начинался в 23 ч. и завершался в 7.00 ч. следующего дня. Тяжесть СОАС была установлена в соответствии с рекомендациями Американской академии медицины сна [28]. У всех участников были зафиксированы клинические и антропометрические данные. Уровень дневной сонливости оценивали по шкале сонливости Эпворта.

Полиморфизмы генов MTNR1B (rs10830963) и СYP1A1 (rs4646421) определяли методом полимеразной цепной реакции в клинико-диагностической лаборатории УЗ «Гродненская университетская клиника». Материалом для исследования явилась венозная кровь. Выделение геномной ДНК из лейкоцитов венозной крови проводилось согласно инструкции производителя с использованием набора реагентов «ДНК-Экстран-1», производства Синтол, РФ. Последующее определение полиморфного варианта гена MTNR1B и локуса С6310Т гена СYP1A1 выполнялось методом аллель-специфической полимеразной цепной

реакции в режиме реального времени на амплификаторе «Rotor Gene 6000» («Corbett Research Pty Ltd.», Австралия), комплектом реагентов компании СИНТОЛ (Россия).

С целью оценки уровня мелатонина определяли содержание его основного метаболита 6-сульфатоксимелатонина (6-COMT) в суточной моче и отдельно в дневной и ночной её порциях. За ночь принималось время с 23.00 до 07.00 следующего дня. Рассчитывался индекс ночь/день. Количественное определение уровня 6-COMT в моче проводилось на иммуноферментном анализаторе Sunrise TECAN, с помощью набора для иммуноферментного анализа Human MS (Melatonin Sulfate) ELISA KitCat № EH3383.

Статистический анализ материала проводился с использованием пакета программ Statistica 10.0 (StatSoft, Inc.). Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению, для этого использовался критерий Шапиро-Уилка. С учетом несоответствия большинства выборок критериям нормального распределения при анализе данных использовались методы непараметрической статистики. Количественные данные выражались в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (25%; 75%). Номинальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей, границ 95% доверительного интервала (95% ДИ). Различия между непрерывными переменными в группах были проверены с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. Статистический анализ распределения частот аллелей проводили с использованием таблиц сопряжённости и критерия χ^2 . При ожидаемом явлении хотя бы в одной ячейке таблицы менее 10, нами рассчитывался критерий χ^2 с поправкой Йейтса. Для оценки ассоциации генотипов с риском развития СОАС использовали отношение шансов (OR) с 95% доверительным интервалом. С целью изучения связи между явлениями использовался расчет коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Это было простое открытое поперечное сравнительное исследование. В исследование были включены 86 пациентов (мужчин 52 (61%), женщин 33 (39%); средний возраст $47,0 \pm 8,9$ лет). На основании результатов респираторного мониторинга когорты была разделена на 2 группы: основная группа ($n = 40$) – пациенты с СОАС, контрольная группа ($n = 46$) – пациенты без СОАС. Характеристика исследуемых групп представлена в таблице 1.

С целью изучения ассоциации полиморфизмов генотипа MTNR1B с особенностями продукции мелатонина был проведен сравни-

тельный анализ уровня 6-SOMT в моче. Полученные данные представлены в таблице 2.

Как видно из представленной таблицы, для пациентов с СОАС в сравнении с пациентами контрольной группы были характерны более высокие значения уровня 6-SOMT в суточной моче ($p = 0,0076$) и в дневной её порции ($p = 0,0011$). Также у пациентов с СОАС отмечалось значимое смещение пика синтеза мелатонина на дневные часы, о чём свидетельствует снижение индекса ночь/день ($p = 0,018$).

В сформированной выборке пациентов проведена сравнительная оценка частоты встречаемости полиморфных вариантов гена MTNR1B и CYP1A1. Распределение частот генотипов полиморфных вариантов изучаемых генов соответствовало ожидаемому по закону Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 3,78$; $p = 0,83$ и $\chi^2 = 1,02$; $p = 0,86$ соответственно).

Генетическая структура исследуемых групп по гену MTNR1B определяется наличием всех трёх генотипов: CC, CG и GG. Распространённость генотипов CC, CG и GG у пациентов с СОАС составила соответственно 29 (72,5%; 95% ДИ: 57,0-84,0%), 8 (20,0%; 95% ДИ: 10,2-35,0%) и 3 (7,5%; 95% ДИ: 1,9-20,6%). У пациентов контрольной группы – 18 (39,1%; 95% ДИ: 26,4-53,6%), 19 (41,3%; 95% ДИ: 28,3-55,7%) и 9 (19,6%; 95% ДИ: 10,4-33,4%). Полученные данные представлены на рисунке 1. Анализ распределения частот генотипов полиморфного гена MTNR1B показал существенное повышение частоты гомозиготного генотипа CC в группе пациентов с СОАС ($\chi^2 = 9,61$, $p = 0,0019$), а также снижение частоты генотипа CG ($\chi^2 = 4,51$, $p = 0,034$) по сравнению с пациентами без СОАС (см. рисунок). Полученные результаты могут свидетельствовать о возможной предрасположенности лиц с гомозиготным генотипом CC гена MTNR1B к развитию СОАС (OR = 4,10, 95% ДИ: 1,65-10,21). Носительство генотипов CG, напротив, оказывает протективную роль в отношении развития СОАС (OR = 0,36, 95% ДИ: 0,13-0,94).

Анализ частот генотипов гена CYP1A1 показал наличие в исследуемых группах двух генотипов этого гена: CC и CT. В обеих группах отсутствовали носители гомозиготного генотипа TT гена CYP1A1. При анализе частот полиморфного варианта C6310T гена CYP1A1 не выявлено достоверных различий между исследуемыми группами. Частота встречаемости гомозиготного генотипа CC в группе пациентов с СОАС составила 29 (72,5%; 95% ДИ: 57,0-84,0%), гетерозиготного генотипа CT – 11 (27,5%; 95% ДИ: 16,0-43,0%), что не отличается от таковой в контрольной группе, где она составила 30 (65,2%; 95% ДИ: 50,7-77,4%) и 16 (34,8%; 95% ДИ: 22,6-49,3%) соответственно. Различие частоты встречаемости различных генотипов полиморфного локуса C6310T гена CYP1A1, оцененное с помощью критерия χ^2 Пирсона было статистически незначимо ($\chi^2 = 0,53$, $p = 0,48$).

Таблица 1. Клиническая характеристика исследуемых групп (Me (25%; 75%))

Показатель	Основная группа (n = 40)	Контрольная группа (n = 46)	p-value
Возраст, лет	52,0 (48,0; 56,0)	43,0 (37,0; 50,0)	0,00014
Муж., n (%)	27 (67,5%)	28 (60,9%)	NS
ИМТ, кг/м ²	30,9 (28,7; 34,5)	27,6 (23,8; 29,8)	0,0023
Окружность шеи, см	40,0 (38,0; 43,0)	38,0 (35,0; 41,0)	0,013
Шкала Эпворта, баллы	6,5 (5,0; 10,0)	4,0 (2,0; 7,0)	0,0086
ИАГ, hour ⁻¹	12,6 (10,8; 22,3)	3,1 (1,6; 4,6)	<0,0001

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; ИАГ – индекс апноэ/гипопноэ

Table 1. Clinical characteristics of study groups (Me (25%; 75%))

Parameter	Index group (n = 40)	Control group (n = 46)	p-value
Age, years	52.0 (48.0; 56.0)	43.0 (37.0; 50.0)	0.00014
Males, n (%)	27 (67.5%)	28 (60.9%)	NS
BMI, kg / m ²	30.9 (28.7; 34.5)	27.6 (23.8; 29.8)	0.0023
Neck circumference, cm	40.0 (38.0; 43.0)	38.0 (35.0; 41.0)	0.013
Epworth scale, score	6.5 (5.0; 10.0)	4.0 (2.0; 7.0)	0.0086
AHI, hour ⁻¹	12.6 (10.8; 22.3)	3.1 (1.6; 4.6)	<0.0001

Note: BMI – body mass index; AHI – apnea/hypopnea index

Таблица 2. Уровень 6-SOMT в исследуемых группах (Me (25%; 75%))

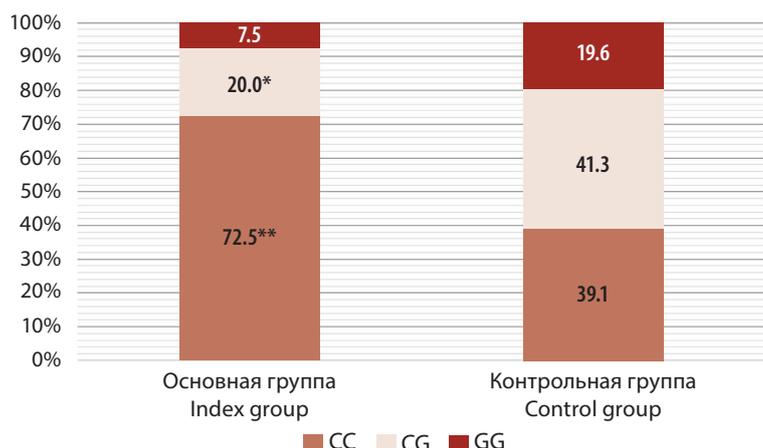
Уровень 6-SOMT, нг/мл	Основная группа (n = 30)	Контрольная группа (n = 32)
Суточная моча	84,7 (46,6; 131,3)	37,3 (11,7; 96,0)**
Дневная моча	103,5 (73,6; 165,7)	33,0 (8,8; 92,2)**
Ночная моча	77,3 (30,6; 99,4)	45,4 (9,4; 83,9)
Индекс ночь/день, %	44,4 (27,2; 48,5)	49,6 (41,1; 59,9)*

Table 2. Concentration of 6-SOM in study groups (Me (25%; 75%))

Concentration of 6-SOM, ng/ml	Index group (n = 30)	Control group (n = 32)
24-hour urine	84.7 (46.6; 131.3)	37.3 (11.7; 96.0)**
Daytime urine	103.5 (73.6; 165.7)	33.0 (8.8; 92.2)**
Nocturnal urine	77.3 (30.6; 99.4)	45.4 (9.4; 83.9)
Night/day index, %	44.4 (27.2; 48.5)	49.6 (41.1; 59.9)*

В последующем для оценки связи генотипов полиморфного гена MTNR1B с клиническими проявлениями СОАС и уровнем 6-SOMT все пациенты были разделены на две группы: группа 1 (n = 47) – носители генотипа CC гена MTNR1B и группа 2 (n = 39) – носители генотипов CG и GG гена MTNR1B (учитывая малое количество носителей генотипа GG, для увеличения мощности исследования они были объединены в одну группу с носителями генотипа CG). Группы были сопоставимы по полу, возрасту и ИМТ. При этом носители генотипа CC отличались более высоким АИ в сравнении с носителями генотипов CG и GG (7,5 (4,0; 18,0) и 4,0 (1,6; 12,2) соответственно, $p = 0,030$).

При анализе клинических проявлений СОАС были получены статистически значимые различия по наличию храпа, беспокойного неосвежающего сна и повышенной дневной сонливости. Наличие постоянного громкого храпа отмечали 37 (78,7%; 95% ДИ: 79,4-98,1%) пациентов из группы 1 и 23 (59%; 95% ДИ: 36,1-63,9%) пациента из группы 2 ($\chi^2 = 3,94$, $p = 0,047$). Беспокойный и неосвежающий сон отмечал-



Примечание: * – различия статистически значимы, $p < 0,05$, ** – различия статистически значимы, $p < 0,01$

Рисунок 1. Частота встречаемости (%) генотипов гена MTNR1B в исследуемых группах

Note: * – differences are statistically significant, $p < 0.05$, ** – differences are statistically significant, $p < 0.01$

Figure 1. Frequency (%) of MTNR1B gene genotypes in study groups

Таблица 3. Показатели респираторного мониторинга (Me (25%; 75%)) в исследуемых группах

Показатели респираторного мониторинга	Генотипы гена MTNR1B		p-value
	CC (n = 47)	CG+GG (n = 39)	
AHI, hour ⁻¹	11,2 (4,6; 20,5)	3,9 (1,8; 8,0)	0,00014
AI, hour ⁻¹	5,3 (1,3; 15,6)	1,6 (0,7; 2,9)	0,0045
HI, hour ⁻¹	3,0 (2,0; 6,7)	1,8 (1,0; 3,5)	0,0067
oAHI, hour ⁻¹	6,1 (2,0; 14,6)	1,7 (0,9; 4,0)	0,00037
AAIresp, hour ⁻¹	5,6 (3,6; 13,0)	3,3 (1,5; 5,2)	0,00044
RERAS, hour ⁻¹	1,7 (0,4; 3,3)	0,6 (0; 1,6)	0,037
Макс. продолжит-ть апноэ, сек.	28,0 (21,0; 38,0)	23,0 (16,0; 28,0)	0,037
Индекс десатурации/час	5,5 (1,0; 10,0)	1,4 (0,6; 3,0)	0,047
Время < 90%, мин.	1,3 (0,19; 10,4)	0,16 (0,04; 1,9)	0,013

Примечание: AHI – среднее число всех респираторных событий за час исследования; AI – среднее число апноэ; HI – среднее число гипопноэ; oAHI – количество эпизодов апноэ/гипопноэ обструктивного характера; AAIresp – количество пробуждений, связанных с респираторными событиями; RERAS – количество активаций ЦНС, связанных с дыхательными усилиями; время <90% – время, в течение которого насыщение было ниже 90%

Table 3. Respiratory monitoring indicators (Me (25%; 75%)) in study groups

Respiratory monitoring indicators	Genotypes of the MTNR1B gene		p-value
	CC (n = 47)	CG+GG (n = 39)	
AHI, hour ⁻¹	11.2 (4.6; 20.5)	3.9 (1.8; 8.0)	0.00014
AI, hour ⁻¹	5.3 (1.3; 15.6)	1.6 (0.7; 2.9)	0.0045
HI, hour ⁻¹	3.0 (2.0; 6.7)	1.8 (1.0; 3.5)	0.0067
oAHI, hour ⁻¹	6.1 (2.0; 14.6)	1.7 (0.9; 4.0)	0.00037
AAIresp, hour ⁻¹	5.6 (3.6; 13.0)	3.3 (1.5; 5.2)	0.00044
RERAS, hour ⁻¹	1.7 (0.4; 3.3)	0.6 (0; 1.6)	0.037
Max. apnea duration/sec	28.0 (21.0; 38.0)	23.0 (16.0; 28.0)	0.037
Desaturation index/hour	5.5 (1.0; 10.0)	1.4 (0.6; 3.0)	0.047
Time < 90%, min.	1.3 (0.19; 10.4)	0.16 (0.04; 1.9)	0.013

Note: AHI is the average number of all respiratory events per hour of the study; AI is the average number of apnea; HI – average number of hypopnea; oAHI – the number of obstructive apnea/hypopnea episodes; AAIresp – the number of awakenings associated with respiratory events; RERAS – the number of CNS activations associated with respiratory efforts; time < 90% – the time during which the saturation was below 90%

ся у 27 (57,5%; 95% ДИ: 51,9-80,0%) пациентов группы 1 и у 13 (33,3%; 95% ДИ: 17,2-42,7%) группы 2 ($\chi^2 = 4,98$, $p = 0,026$). Избыточную дневную сонливость отмечали 32 (69,6%; 95% ДИ: 65,0-89,8%) пациента группы 1 и 18 (46,2%; 95% ДИ: 26,4-53,6%) группы 2 ($\chi^2 = 4,78$, $p = 0,029$). По результатам расчёта отношения шансов выявлено, что наличие описанных симптомов ассоциировано с носительством гомозиготного генотипа CC гена MTNR1B: храп (OR = 3,04, 95% ДИ: 1,16-7,94), беспокойный сон (OR = 2,7, 95% ДИ: 1,12-6,52), дневная сонливость (OR = 2,67, 95% ДИ: 1,10-6,49).

При анализе данных респираторного мониторинга также выявлены достоверные отличия между исследуемыми группами. Результаты представлены в таблице 3.

Как видно из представленных данных, носители генотипа CC гена MTNR1B отличаются бóльшим количеством эпизодов апноэ/гипопноэ, в том числе и сопровождающихся снижением насыщения крови кислородом, более частыми пробуждениями и активацией ЦНС, связанными с респираторными событиями во сне.

Между группами пациентов, являющихся носителями разных генотипов MTNR1B, был проведен сравнительный анализ показателей уровня 6-COMT в моче. Результаты полученных данных представлены в таблице 4.

Как следует из представленной таблицы, носители генотипа CC характеризовались достоверно более высоким уровнем 6-COMT в суточной моче ($p = 0,0040$) и дневной её порции ($p = 0,018$).

Сравнительный анализ уровня 6-COMT в зависимости от выявленных полиморфизмов гена CYP1A1 не выявил статистически значимых различий. Результаты представлены в таблице 5.

Для выявления взаимосвязей полиморфизмов гена MTNR1B со степенью тяжести апноэ сна и уровнем 6-COMT был проведен корреляционный анализ. В результате выявлено наличие достоверных положительных связей между носительством генотипа CC и уровнем 6-COMT в суточной моче ($r = 0,56$, $p = 0,00001$), уровнем 6-COMT в дневной моче ($r = 0,43$, $p = 0,0011$), а также индексом апноэ/гипопноэ ($r = 0,33$, $p = 0,01$). Полученные результаты создают предпосылки для продолжения данного исследования в плане увеличения объёма выборки, поскольку для оценки клинического значения полученных данных необходимы более обширные исследования.

Обсуждение

Настоящее исследование показало, что у пациентов с СОАС отмечается изменение синтеза мелатонина, характеризующееся повышением уровня 6-COMT в суточной моче и дневной её порции. Также пациенты с СОАС имеют изменённую циркадную картину секреции мелатонина со сдвигом пика

его синтеза на дневные часы. Полученные нами данные согласуются с некоторыми ранее проведенными исследованиями. Так, С. Hernandez et al. [19] обнаружили сдвиг максимальной концентрации мелатонина в сыворотке крови к 6 утра в своей когорте из 20 пациентов с СОАС. М. Barnaś et al. показали, что около 25% пациентов с СОАС имеют изменённый циркадный паттерн секреции мелатонина [20]. Однако авторы продемонстрировали, что у пациентов с СОАС, которые имели сохранённый циркадный ритм секреции мелатонина, уровни этого гормона в сыворотке крови были значимо ниже в 2 и 6 часов по сравнению со здоровым контролем, что контрастирует с нашими результатами. Возможно, несоответствие полученных результатов обусловлено преобладанием в исследовании М. Barnaś et al. пациентов с тяжёлым апноэ, в то время как в нашем исследовании преобладали пациенты с лёгкой степенью апноэ. Кроме того, использование сывороточных концентраций мелатонина рассматривается авторами как ограничение их исследования, что обусловлено значительными почасовыми колебаниями уровня мелатонина в сыворотке крови. В нашем же исследовании использовалось измерение его стабильного метаболита в моче, что лучше отражает циркадную секрецию мелатонина.

В настоящей работе впервые исследована ассоциация полиморфизма гена MTNR1B с уровнем мелатонина и риском развития СОАС. В результате проведенного исследования была установлена ассоциация гомозиготного генотипа CC гена MTNR1B с более высоким уровнем 6-COMT в суточной моче и дневной её порции. Кроме того, установлена взаимосвязь генотипа CC гена MTNR1B с повышенным риском развития СОАС (OR = 4,10), в то время как маркером устойчивости может быть генотип CG (OR = 0,36). Нами не выявлено значимых различий уровня 6-COMT в моче в зависимости от полиморфизмов S6310T гена CYP1A1. Полученные данные позволяют предположить, что повышение уровня 6-COMT у пациентов с СОАС вероятно обусловлено изменением активности или экспрессии рецепторов MTNR1B. Представляется интересным дальнейшее изучение молекулярного механизма выявленных взаимосвязей, в частности изучение экспрессии рецепторов MTNR1B в тканях.

СОАС является предиктором фатальных сердечно-сосудистых событий, в том числе и внезапной сердечной смерти [21]. Накопленные данные доказывают, что мелатонин оказывает кардиопротективное действие при реперфузионном повреждении миокарда [22]. Dong Nan et al. впервые показали, что именно активация рецепторов MTNR1B подавляет апоптоз кардиомиоцитов и смягчает повреждение миокарда на фоне ишемии/реперфузии [23]. Таким образом, весьма актуальным представляется поиск ассоциаций генетического

Уровень 6-COMT, нг/мл	Генотипы гена MTNR1B	
	CC (n = 36)	CG+GG (n = 30)
Суточная моча	87,1 (46,6; 127,3)	39,3 (10,8; 85,9)**
Дневная моча	100,3 (49,6; 166,6)	64,9 (24,1; 93,0)*
Ночная моча	73,8 (30,3; 92,9)	30,2 (4,6; 95,1)
Индекс ночь/день, %	45,9 (31,6; 53,7)	45,9 (33,5; 51,8)

Примечание: * – различия статистически значимы, $p < 0,05$;
** – различия статистически значимы, $p < 0,01$

Concentration of 6-SOM, ng/ml	Genotypes of the MTNR1B gene	
	CC (n = 36)	CG+GG (n = 30)
24-hour urine	87.1 (46.6; 127.3)	39.3 (10.8; 85.9)**
Daytime urine	100.3 (49.6; 166.6)	64.9 (24.1; 93.0)*
Nocturnal urine	73.8 (30.3; 92.9)	30.2 (4.6; 95.1)
Night/day index, %	45.9 (31.6; 53.7)	45.9 (33.5; 51.8)

Note: * – differences are statistically significant, $p < 0.05$;
** – differences are statistically significant, $p < 0.01$

Таблица 5. Уровень 6-COMT (Me (25%; 75%)) в зависимости от полиморфизма гена CYP1A1

Уровень 6-COMT, нг/мл	Генотипы гена MTNR1B		p-value
	CC (n = 47)	CT (n = 18)	
Суточная моча	78,8 (21,4; 100,0)	60,5 (34,3; 103,0)	0,82
Дневная моча	75,7 (27,0; 132,7)	73,6 (25,0; 164,4)	0,86
Ночная моча	66,7 (9,3; 92,8)	47,6 (24,4; 95,1)	0,88
Индекс ночь/день, %	45,9 (34,2; 50,8)	47,3 (33,5; 61,1)	0,37

Table 5. Concentration of 6-SOM (Me (25%; 75%)) depending on the polymorphism of the CYP1A1 gene

Concentration of 6-SOM, ng/ml	Genotypes of the MTNR1B gene		p-value
	CC (n = 47)	CT (n = 18)	
24-hour urine	78.8 (21.4; 100.0)	60.5 (34.3; 103.0)	0.82
Daytime urine	75.7 (27.0; 132.7)	73.6 (25.0; 164.4)	0.86
Nocturnal urine	66.7 (9.3; 92.8)	47.6 (24.4; 95.1)	0.88
Night/day index, %	45.9 (34.2; 50.8)	47.3 (33.5; 61.1)	0.37

полиморфизма гена MTNR1B с данными рутинного клинического обследования и других доступных методов обследования пациентов. Обнаружение таких ассоциаций позволит значительно улучшить диагностику СОАС и тем самым способствовать профилактике неблагоприятных последствий апноэ сна.

Благодарность/Acknowledgments. Авторы выражают благодарность заведующей клинико-диагностической лабораторией УЗ «Гродненская университетская клиника» Ершовой М.В. и врачу лабораторной диагностики клинико-диагностической лаборатории УЗ «Гродненская университетская клиника» Максимовой О.А. за выполнение технической части исследования (ПЦР в реальном времени).

Финансирование. Проведение исследования и подготовка статьи не имели спонсорской поддержки.

Acknowledgments. The conduction of research and preparing the manuscript did not take any financial support.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Таблица 4. Уровень 6-COMT (Me (25%; 75%)) в зависимости от полиморфизма гена MTNR1B

Table 4. Concentration of 6-SOM (Me (25%; 75%)) depending on the polymorphism of MTNR1B gene

REFERENCES

1. Peppard P.E., Young T., Barnet J.H., Palta M., Hagen E.W., Hla K.M., et al. Increased prevalence of sleep-disordered breathing in adults. *Am J Epidemiol*, 2013, no. 177, pp. 1006-1014.
2. Kumor M., Bielicki P., Barnaś M., Przybyłowski T., Zieliński J., Chazan R. Prevalence of metabolic syndrome diagnosis in patients with obstructive sleep apnoea syndrome according to adopted definition. *Pneumonol Alergol Pol*, 2013, no. 81, pp. 417-423.
3. Benjafield A.V., Ayas N.T., Eastwood P.R., Heinzer R., Ip M.S.M., Morrell M.J., Nunez C.M., Patel S.R., Thomas P., Pépin J.-L., Peppard P.E., Sinha S., Tufik S., Valentine K., Malhotra A. Estimation of the global prevalence and burden of obstructive sleep apnoea: a literature-based analysis. *Lancet Respir Med*, 2019, vol. 7, no. 8, pp. 687-698. doi: 10.1016/S2213-2600(19)30198-5.
4. Ljunggren M., Byberg L., Theorell-Haglow J., Lindahl B., Michaelsson K., Lindberg E. Increased risk of heart failure in women with symptoms of sleep-disordered breathing. *Sleep Med*, 2016, no. 17, pp. 32-37. doi: 10.1016/j.sleep.2015.09.018.
5. Barnaś M., Maskey-Warzęchowska M., Bielicki P., Kumor M., Chazan R. Diurnal and nocturnal serum melatonin concentrations after treatment with continuous positive airway pressure in patients with obstructive sleep apnea. *Pol Arch Intern Med*, 2017, vol. 127, no. 9, pp. 589-596. doi: 10.20452/pamw.4062.
6. Rapoport S.I., eds. *Melatonin: perspektivy primeneniya v klinike* [Melatonin: prospects for use in the clinic]. Moskva: IMA Press, 2012, 175 p. (in Russian).
7. Gaspar do Amaral F., Cipolla-Neto J. A brief review about melatonin, a pineal hormone. *Arch Endocrinol Metab*, 2018, vol. 62, no. 4, pp. 472-479. doi: 10.20945/2359-3997000000066.
8. Amaral F.G. Melatonin as a hormone: New physiological and clinical insights. *Endocrine Reviews*. *Cipolla-Neto J*, 2018, vol. 39, no. 6, pp. 990-1028.
9. Jockers R., Delagrè Ph., Dubocovich M.L., Markus R.P., Renault N., Tosini G., Cecon E., Zlotos D.P. Update on melatonin receptors: IUPHAR review 20. *Br J Pharmacol*, 2016, vol. 173, no. 18, pp. 2702-2725. doi: 10.1111/bph.13536.
10. Lane J.M., Chang A.M., Bjornes A.C., Aeschbach D., Anderson C., Cade B.E., Cain S.W., Czeisler C.A., Gharib S.A., Gooley J.J. et al. Impact of common diabetes risk variant in MTNR1B on sleep, circadian, and melatonin physiology. *Diabetes*, 2016, vol. 65, no. 6, pp. 1741-1751. doi: 10.2337/db15-0999.
11. Bonnefond A., Froguel P. The case for too little melatonin signalling in increased diabetes risk. *Diabetologia*, 2017, vol. 60, no. 5, pp. 823-825. doi: 10.1007/s00125-017-4255-x.
12. Andersson E.A., Holst B., Sparso Th., Grarup N., Banasik K., Holmkvist J., Jørgensen T., Borch-Johnsen K., Egerod K.L., Lauritzen T., Sørensen T.I.A., Bonnefond A., Meyre D., Froguel P., Schwartz T.W., Pedersen O., Hansen T. MTNR1B G24E variant associates with BMI and fasting plasma glucose in the general population in studies of 22,142 Europeans. *Diabetes*, 2010, vol. 59, no. 6, pp. 1539-1548. doi: 10.2337/db09-1757.
13. Lubrano C., Saponara M., Barbaro G., Specchia P., Addressi E., Costantini D. Relationships between body fat distribution, epicardial fat and obstructive sleep apnea in obese patients with and without metabolic syndrome. *PLoS One*, 2012, vol. 7, no. 10, e47059.
14. Jiang W., Tian X., Wang Y., Sun Z., Dong P., Wang C., Huo X., Zhang B., Huang S., Deng S., Wang X., Ma X. The natural anthraquinones from *Rheum palmatum* induced the metabolic disorder of melatonin by inhibiting human CYP and SULT enzymes. *Toxicol Lett*, 2016, no. 262, pp. 27-38. doi: 10.1016/j.toxlet.2016.09.004.
15. Persson I., Johansson I., Ingelman-Sundberg M. In vitro kinetics of two human CYP1A1 variant enzymes suggested to be associated with interindividual differences in cancer susceptibility. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, vol. 231, no. 1, pp. 227-230. doi: 10.1006/bbrc.1997.6051.
16. Buzunov R.V., Palman A.D., Melnikov A.Ju., Averbuh V.M., Madaeva I.M., Kulikov A.N. Diagnostika i lechenie sindroma obstruktivnogo apnoje sna u vzoslykh. Rekomendacii Rossijskogo obshhestva somnologov [Diagnostics and Treatment of Obstructive Sleep Apnea Syndrome in Adults. Recommendations of the Russian Society of Sleep Medicine]. *Jeffektivnaja farmakologija* [Effective Pharmacotherapy]. 2018, no. 35, pp. 34-45. (in Russian).
17. Cooksey J.A., Balachandran J.S. Portable monitoring for the diagnosis of OSA. *Chest*, 2016, vol. 149, no. 4, pp. 1074-1081.
18. Epstein L.J., Kristo D., Strollo P.J., Friedman N., Malhotra A., Patil S.P., Ramar K., Rogers R., Schwab R.J., Weaver E.M., Weinstein M.D. et al. Clinical guideline for the evaluation, management and long-term care of obstructive sleep apnea in adults. *J Clin Sleep Med*, 2009, vol. 5, no. 3, pp. 263-276.
19. Hernandez C., Abreu J., Abreu P., Castro A., Jiménez A. Nocturnal melatonin plasma levels in patients with OSAS: the effect of CPAP. *Eur Respir J*, 2007, vol. 30, no. 3, pp. 496-500. doi: 10.1183/09031936.00051906.
20. Barnaś M., Maskey-Warzęchowska M., Bielicki P., Kumor M., Chazan R. Diurnal and nocturnal serum melatonin concentrations after treatment with continuous positive airway pressure in patients with obstructive sleep apnea. *Pol Arch Intern Med*, 2017, vol. 127, no. 9, pp. 589-596. doi: 10.20452/pamw.4062.
21. Vijayan V.K. Morbidities associated with obstructive sleep apnea. *Expert Rev Respir Med*, 2012, vol. 6, no. 5, pp. 557-566. doi: 10.1586/ers.12.44.
22. Yu L., Fan C., Li Z., Zhang J., Xue X., Xu Y., et al. Melatonin rescues cardiac thioredoxin system during ischemia-reperfusion injury in acute hyperglycemic state by restoring Notch1/Hes1/Akt signaling in a membrane receptor-dependent manner. *J Pineal Res*, 2017, vol. 62, no. 1, e12375.
23. Han D., Wang Y., Chen J., Zhang J., Yu P., Zhang R., Zhang J., Yu P., Zhang R., Li S., Tao B., Wang Y., Qiu Y., Xu M., Gao E., Cao F. Activation of melatonin receptor 2 but not melatonin receptor 1 mediates melatonin-conferred cardioprotection against myocardial ischemia/reperfusion injury. *J Pineal Res*, 2019, vol. 67, no. 1, e12571. doi: 10.1111/jpi.12571.

Поступила 18.10.2021