

СЕКРЕЦИЯ МЕЛАТОНИНА И ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

■ Сиаран Дж. МакМаллан,
доктор медицинских наук

■ Ева С. Шольнхаммер,
доктор медицинских наук, доктор
санитарии и общественной гигиены

■ Эрик Б. Римм, доктор наук

■ Фрэнк Б. Ху,
доктор медицинских наук, доктор наук

■ Джон П. Форман,
доктор медицинских наук, магистр наук



Мелатонин – это гормон эпифиза, контролируемый биологическими часами; он находится в гипоталамусе, и его активность зависит от степени освещенности. Секретция мелатонина подчинена суточному ритму, ее пик обычно приходится на период между 3 и 5 часами после наступления сна в темное время суток, в то время как при дневном свете мелатонин практически не вырабатывается. Рецепторы мелатонина были обнаружены по всему телу во многих тканях, включая клетки панкреатического островка, что подтверждает широкий спектр воздействия мелатонина на физиологические функции, например, энергетический метаболизм и регуляция веса тела.

МЕТОДЫ

Популяция и дизайн исследования

Мы провели исследование типа «случай-контроль», вложенное в Исследование здоровья медицинских сестер. Это исследование было начато в 1976 году, когда 121 701 зарегистрированных медицинских сестер в возрасте от 30 до 55 лет сдали заполненные первичные анкеты. В этих и последующих анкетах, которые предлагалось заполнять один раз в два года, участницы приводили данные о состоянии здоровья, принимаемых лекарствах, пищевом рационе, а также показателях образа жизни, включая анамнез курения, уровень физической активности и режим сна. В период с 1999 по 2000 год 18 743 женщин кроме заполненных анкет сдали пробы крови и мочи, полученной утром при первом мочеиспускании.

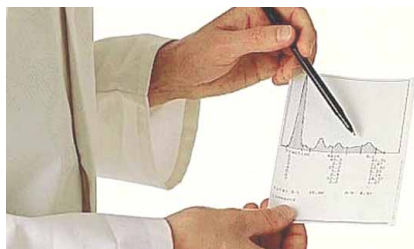
Участницы отправили эти пробы в термостатической упаковке экспресс-почтой с доставкой на следующее утро, а затем образцы были разделены на аликвоты и помещены в жидкий азот, где хранились до проведения анализа. Настоящее исследование было одобрено Институциональным ревизионным советом по вопросам этики Женской больницы Бригама.

Основная и контрольная группы

Из женщин, удовлетворяющих критериям отбора, в основную группу были

определены те участницы, у которых после заполнения анкеты в 2000 году диагностирован диабет 2 типа (как указано ниже). На основании предварительных данных, полученных путем анализа небольшого образца, мы установили, что формирование 370 пар, соответствующих случаю и контролю, обеспечит статистическую мощность 80% для оценки отношения шансов (ОШ), составляющего, как минимум, 1,6 между самым высоким и самым низким тертилями мелатонина с двусторонним порогом значимости, составляющим 0,05.

Соответственно, мы отобрали 370 участниц, у которых развился диабет 2 типа в период с 2000 по 2012 год. Каждой участнице из основной группы противопоставлялась конкретная участница из контрольной группы с аналогичными показателями по возрасту (разница в возрасте – не более 1 года), дате предоставления пробы крови (в течение одного месяца) и этнической принадлежности (называемой участницами).



Диагностика диабета

Участниц, которые приводили информацию о наличии у них диабета в анкетах, заполняемых каждые два года, просили заполнить дополнительную анкету с целью уточнения уровня глюкозы в крови на момент диагностики и медицинских препаратов, применяемых для контроля гипогликемии. Информация, указанная в такой дополнительной анкете, проверялась на предмет соответствия диагностики диабета критериям, установленным Американской Ассоциацией по диабету. Достоверность этих дополнительных анкет была установлена в ходе Исследования здоровья медицинских сестер врачом-эндокринологом при использовании слепого метода, который провел обзор медицинских карт 62 женщин, сообщивших о диабете; врач-эндокринолог подтвердил диагноз диабет в 61 случае (98,4%).

Секретция мелатонина в ночное время

Секретция мелатонина оценивалась путем измерения концентрации его основного метаболита, 6-сульфатоксимелатонина, в образце мочи, полученной утром при первом мочеиспускании, и данный показатель нормировался по со-

держанию креатинина в моче. Показатель концентрации 6-сульфатоксимелатонина в моче, полученной утром при первом мочеиспускании, нормированный по содержанию креатинина в моче (соотношение 6-сульфатоксимелатонина и креатинина), широко применяется для оценки секреции мелатонина в ночное время. Например, в соответствии с результатами двух исследований, популяции которых были схожими с популяцией настоящего исследования, соотношение 6-сульфатоксимелатонина и креатинина в моче, полученной утром при первом мочеиспускании, тесно взаимосвязано с секрецией мелатонина плазмы в ночное время (коэффициент ранговой корреляции Спирмена – 0,76).

Отбор ковариат

На основании данных анкеты, заполненной на дату сдачи проб мочи и крови, были определены такие показатели, как возраст, этническая принадлежность (называемая участницами), менопаузальный статус, индекса массы тела (ИМТ, рассчитываемый путем деления значения веса (в килограммах) на значение роста (в метрах) в квадрате) и анамнез курения. Данные анкет о частоте приема пищи также использовались для расчета как альтернативного индекса здорового питания (прогностический фактор диабета 2 типа, оценка которого проводилась в аналогичных когортах), так и диетического гликемического индекса.

Показатель диетического гликемического индекса рассчитывался как средне-взвешенное значение (взвешенное по количеству потребляемых углеводов) отдельных гликемических индексов каждого продукта. Сведения о продолжительности сна и частоты храпа были получены из анкет, заполняемых женщинами каждые два года, сданных в 2000 году. Участницы были разделены на 4 категории в зависимости от географического региона США, в котором они проживали на момент сбора проб мочи и крови.

Показатели всех биологических маркеров определялись в исследовательской лаборатории Nader Rifai, Филадельфия (Детская больница Бостона). Высокочувствительный С-реактивный белок измерялся при использовании высокочувствительного иммунофелометрического анализа с реагентами и калибраторами производства компании Denka Seiken. Интерлейкин-6, фактор межклеточной адгезии 1 и Е-селектин определялись при использовании стандартного ферментного иммуносорбентного анализа (компании R & D Systems).

Коэффициенты вариации для серии анализов составляли 1% для высокочувствительного С-реактивного белка, 11%

для интерлейкина-6, 5% для фактора межклеточной адгезии 1 и 9% для E-селектина. Уровни инсулина и триглицеридов определялись при использовании радиоиммуноанализа и стандартных ферментных методов, соответственно. Коэффициенты вариации составляли 2% для инсулина и 9% для триглицеридов.

Индекс чувствительности к инсулину (темп утилизации глюкозы с поправкой на индекс безжировой массы тела [MFFM]) рассчитывался по формуле, выведенной в исследовании McAuley et al23:

Все ковариаты были включены в анализ как непрерывные переменные, за исключением гипертонии («да» или «нет»), частоты храпа (большинство ночей, периодически, практически никогда), продолжительности сна (<5 часов, 5-6 часов, 7-8 часов, 9-10 часов, > 10 часов), а также географического региона в США (Север, Юг, Средний Запад, Запад).

Статистический анализ

Уровни 6-сульфатоксимелатонина нормировались по уровню креатинина в пробе с целью учета различий, обусловленных колебаниями значений концентраций в моче (соотношение 6-сульфатоксимелатонина и креатинина, выраженное как нанограмм 6-сульфатоксимелатонина на миллиграмм креатинина). Соотношение 6-сульфатоксимелатонина и креатинина анализировалось двумя методами. В первом случае мы разделили соотношение 6-сульфатоксимелатонина и креатинина на три категории; точки разделения по этим категориям основывались на тертилях соотношения 6-сульфатоксимелатонина и креатинина среди участниц контрольной группы. Во втором случае мы проанализировали соотношение 6-сульфатоксимелатонина и креатинина как непрерывную переменную, которая была подвергнута логарифмическому преобразованию по значительной правосторонней асимметрии распределения.

На исходном уровне среднее значение, перцентили соотношения 6-сульфатоксимелатонина и креатинина (с 5 по 95) и все ковариаты были рассчитаны при использовании данных всех участников. Для того чтобы в общем виде установить взаимосвязь между этими ковариатами и диабетом, мы провели сравнение распределений этих ковариат по статусу «случай-контроль», используя критерий знаковых рангов Уилкоксона и критерий хи-квадрат, в зависимости от ситуации.

Мы использовали модели условной логистической регрессии, делая поправку на применение лекарственных средств, влияющих на метаболизм мелатонина, а именно, бета-блокаторов и средств нестероидной противовоспалительной терапии, а также на известные факторы риска развития диабета 2 типа, включая биологические маркеры воспаления и эндотелиальной дисфункции, для оценки относительного риска развития диабета 2 типа по соотношению 6-сульфатоксимелатонина и креатинина (представленный как отношения шансов с 95% доверительным интервалом). Был проведен ряд анализов чувствительности.

Во-первых, мы проанализировали возможность существования нелинейной

взаимосвязи между секрецией мелатонина и риском развития диабета путем построения ограниченных кубических сплайнов. Во-вторых, мы провели оценку потенциальной взаимосвязи между ИМТ, продолжительностью сна и частотой храпа, а также взаимосвязи между секрецией мелатонина и развитием диабета 2 типа; для оценки таких взаимосвязей использовался тест логарифмического отношения правдоподобия.

В-третьих, мы проанализировали взаимосвязь соотношения 6-сульфатоксимелатонина и креатинина и диабета 2 типа при использовании безусловной логистической регрессии и стратификации по квинтилям ИМТ. В-четвертых, мы проанализировали взаимосвязь между соотношением 6-сульфатоксимелатонина и креатинина и диабетом 2 типа с поправкой на индекс чувствительности к инсулину (при использовании формулы, выведенной в исследовании McAuley et al23) для оценки резистентности к инсулину как потенциальной прометической причины.

Так как пары «контроль-случай» были сформированы методом случайной выборочной совокупности, ОШ в условной логистической регрессии дает возможность оценить относительные показатели. Коэффициент заболеваемости диабетом в исходной популяции был низким (6,3/1000 человеко-лет); следовательно, мы предположили, что показатели распределения секреции мелатонина в контрольной группе полностью соответствовали показателям распределения секреции мелатонина в исходной популяции. Таким образом, у нас была возможность оценить абсолютную разницу коэффициента заболеваемости в самой высокой и самой низкой категории секреции мелатонина при использовании подхода, описанного выше, где коэффициент заболеваемости в эталонной категории может быть выражен следующим образом:

коэффициент заболеваемости в эталонной категории –
3-х ожидаемый коэффициент заболеваемости диабетом в популяции

$$(1 + \text{ОШ}_2 + \text{ОШ}_3)$$

где ОШ_2 и ОШ_3 – это отношения шансов заболеваемости диабетом в категориях 2 и 3 относительно эталонной категории, и ожидаемый коэффициент заболеваемости диабетом рассчитывается, исходя из показателей такой исходной популяции.

Все P значения были двусторонними с порогом значимости 0,05. Все статистические анализы были выполнены с использованием программы SAS, версия 9.2 (SAS Institute Inc).

КОММЕНТАРИИ

Мы установили независимую взаимосвязь между секрецией мелатонина и последующим развитием диабета 2 типа. Показатели мелатонина участниц нашего исследования значительно различались; среднее соотношение 6-сульфатоксимелатонина и креатинина составляло 67,0 нг/мг в самой высокой категории, по сравнению с 14,4 нг/мг в самой низкой категории. У участниц, относящихся к самой низкой категории секреции мелатонина, ОШ развития диабета 2 типа составляло 2,17 по сравнению с участницами, относящимися



к самой высокой категории секреции мелатонина, даже с учетом ряда потенциальных искажающих факторов. Данное значение ОШ было выражено как абсолютная разница коэффициента заболеваемости диабетом между самой высокой и самой низкой категорией секреции мелатонина, составляющая 5 случаев/1000 человеко-лет.

В соответствии с результатами экспериментальных исследований, мелатонин оказывает положительное воздействие на метаболизм глюкозы. Прием мелатонина внутрь оказывал защитное воздействие на крыс, предрасположенных к диабету, и препятствовал развитию гиперлипемии, гипергликемии и гиперлептинемии при одновременной высококалорийной диете, в то время как прием мелатонина мышьями с резистентностью к инсулину способствовал устранению последней и улучшению метаболизма глюкозы. В соответствии с результатами *in vitro* исследований клеток панкреатического островка человека, продолжительное воздействие на них мелатонина приводило к улучшению показателей чувствительности к глюкозе. Под воздействием мелатонина активируется путь выживания фосфатидилинозит-3-киназы / протеинкиназы B и путь роста митоген-активируемой протеинкиназы / киназы, регулируемой внеклеточными сигналами клеток панкреатического островка *in vitro*, что теоретически объясняет низкую плотность клеток панкреатического островка, наблюдаемую у крыс после пинеалэктомии.

Защитное действие мелатонина в том, что касается развития диабета, также подтверждено результатами кросс-секционных исследований людей, в большинстве своем, небольших. В результате исследования Peschke et al35 было установлено, что серийные уровни мелатонина в плазме в ночное время были значительно ниже у 6 больных диабетом, чем у 5 пациентов контрольной группы ($P < 0,01$). Аналогичным образом, в исследовании Hikichi et al36 с участием 56 пациентов было установлено, что уровень мелатонина в плазме в ночное время был значительно ниже у пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией ($n=14$) по сравнению со здоровыми участниками ($n=26$) (10,9 по сравнению с 37,5 пикограмм/мл, соответственно, $P < 0,01$), но не у пациентов с диабетом, но без пролиферативной ретинопатии ($n=16$) по сравнению со здоровыми участниками ($n=26$) (31,1 по сравнению с 37,5 пикограмм/мл, соответственно). Авторы данного исследования предположили, что взаимосвязь между мелатонином и

диабетом, вероятно, была опосредована нарушением светочувствительности сетчатки и, следовательно, сниженной секрецией мелатонина.

В соответствии с результатами небольшого кросс-секционного анализа, в котором приняли участие 21 пациент с метаболическим синдромом и 19 здоровых лиц, включенных в контрольную группу, уровень мелатонина в плазме в ночное время и уровень инсулина положительным образом взаимосвязаны у пациентов с метаболическим синдромом ($r=0,64$), но не у участников контрольной группы. В результате более крупного кросс-секционного анализа 1075 женщин, не страдающих диабетом, было установлено ОШ резистентности к инсулину, составляющее 0,45 (95% доверительный интервал, 0,28-0,74) у женщин в самом высоком квартиле по сравнению с женщинами в самом низком квартиле секреции мелатонина в ночное время (С. МакМаллан, доктор медицинских наук, неопубликованные данные, март 2013 года).

В результате нескольких крупных популяционных генетических исследований с участием людей различного этнического происхождения были установлены возможные свидетельства вероятной роли мелатонина в метаболизме глюкозы. Определенные однонуклеотидные полиморфизмы гена рецептора мелатонина MTNR1B взаимосвязаны с уровнем глюкозы натощак, уровнем гемоглобина A1c, а также уровнем заболеваемости гестационным диабетом и диабетом 2 типа. Те варианты однонуклеотидных полиморфизмов MTNR1B, сопутствующих развитию диабета, которые ведут к частичной или полной потере функции рецептора MTNR1B, соотносятся с самым высоким уровнем заболеваемости диабетом 2 типа.

Результаты ранее проведенных исследований дают основание предположить, что воздействие света в ночное время, а также работа в ночную смену по скользящему графику или недосыпание влекут за собой развитие различных заболеваний, включая рак. Нарушение сна также может быть связано с развитием диабета. Например, предрасположенность к развитию диабета у мужчин, которые спят менее 5 часов в течение ночи, была в два раза выше, чем у мужчин, которые спят 7 часов в сутки. Аналогичным образом, у женщин, которые постоянно храпят, вероятность развития диабета 2 типа в 2,2 раза выше, чем у женщин, которые никогда не храпят, даже с поправкой на ожирение. В ходе недавно проведенного исследования было обнаружено, что у участников, отмечавших недосыпание в течение продолжительного времени, была нарушена толерантность к глюкозе в результате нарушения панкреатической секреции инсулина.

Данные проведенного нами исследования типа «случай-контроль» о взаимосвязи недосыпания и частоты храпа с развитием диабета 2 типа согласуются с результатами указанных ранее проведенных исследований. Так как нарушение сна также обуславливает снижение секреции мелатонина, существует вероятность того, что нарушение сна, вызывающее развитие диабета через иные механизмы, кроме мелатонина,



может привести к искажению показателей установленной взаимосвязи между мелатонином и диабетом. Однако поправка на продолжительность сна и частоту храпа, сделанная в проведенном нами мультивариантном анализе, не привела к статистически значимому изменению показателей взаимосвязи между секрецией мелатонина и развитием диабета 2 типа. Возможно, что отсутствие искажающих факторов объясняется ошибками при предоставлении информации о продолжительности сна и частоте храпа в анкете.

С другой стороны, нарушение секреции мелатонина может быть обусловлено и другими аспектами нарушения сна, помимо продолжительности сна и частоты храпа. Эти факторы также могут объяснить механизм благотворного воздействия мелатонина на грызунов, которые остаются активными в ночное время, т.е., в период максимальной секреции мелатонина, и у которых, тем не менее, наблюдалось благотворное влияние на метаболизм при пероральном приеме мелатонина.

Если учесть описанную ранее взаимосвязь между сниженной секрецией мелатонина и повышенной резистентностью к инсулину, не исключено, что резистентность к инсулину представляет собой промежуточное звено в причинно-следственной цепочке между секрецией мелатонина и диабетом 2 типа. Причины данного явления неясны; однако возможно, что влияние секреции мелатонина на гомеостаз глюкозы не ограничивается чувствительностью к инсулину, которая рассчитывается при использовании формулы, выведенной в исследовании McAuley et al²³, и для более четкого определения влияния мелатонина на панкреатическую секрецию инсулина и на периферическую инсулинорезистентность могут потребоваться более прямые методы измерения физиологических параметров гомеостаза глюкозы, гипергликемический или гиперинсулинемический клэмп-тест.

Для нашего исследования характерны некоторые ограничения. Во-первых, так как исследование было наблюдательным, мы не могли сделать выводы о причинно-следственной связи.

Во-вторых, для наблюдательных исследований характерны потенциальные искажающие факторы; например, при-

менение нами статуса храпа в качестве опосредующего фактора для нарушения дыхания во сне сопряжено с определенными недостатками, и, следовательно, в связи с апноэ во время сна может возникнуть остаточный искажающий фактор. Однако у нас имеется надежная информация о ряде известных факторов риска развития диабета, включая питание, образ жизни, личный и семейный анамнез заболевания, а также присутствие в крови маркеров воспаления и эндотелиальной дисфункции, и мы сделали поправку на такие факторы риска.

В-третьих, наши анализы были основаны на данных о диабете, предоставленных самими участниками. В-четвертых, у нас не было возможности проанализировать несколько образцов на предмет уровня мелатонина в плазме крови в ночное время. Однако определение уровня 6-сульфатосимелатонина в моче, полученной утром при первом мочеиспускании, нормированное по содержанию креатинина, позволяет сделать достоверную оценку выработки мелатонина в ночное время.

В-пятых, мы не располагали генетической информацией женщин, принявших участие в нашем исследовании, что создавало ограничения при истолковании взаимосвязей между секрецией мелатонина и типами рецептора мелатонина. В-шестых, при включении в исследование, при сдаче проб мочи и крови, участницы не предоставили информации о работе в ночную смену по скользящему графику; следовательно, мы не могли сделать поправку на работу в ночную смену в наших многопараметрических моделях.

В-седьмых, на момент начала исследования его популяция ограничивалась медсестрами, которые принимали участие в эпидемиологическом исследовании в течение 24 лет. Однако коэффициент заболеваемости диабетом в популяции данного исследования был аналогичен соответствующему показателю других популяционных когорт. Кроме того, популяцию настоящего исследования составили только женщины, и 97% из них относились к европеоидной расе. Следовательно, остается неизвестным, применимы ли результаты нашего исследования к мужчинам или к представителям других рас.

ВЫВОД

Была установлена независимая взаимосвязь между сниженной секрецией мелатонина и повышенным риском развития диабета 2 типа. Заслуживает внимание предположение, вытекающее из этих данных, а также из ранее опубликованной научной литературы, о том, что сниженная секреция мелатонина влечет за собой риск развития диабета. Для того чтобы определить, приведет ли повышение уровней мелатонина (эндогенным путем, благодаря более продолжительному пребыванию в темноте в ночное время, или экзогенным путем, посредством приема соответствующих препаратов) к повышению чувствительности к инсулину и уменьшению уровня заболеваемости диабетом 2 типа, необходимы дальнейшие исследования.

P.S. Список литературы находится в редакции.