



Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu

Szczepan Cofta

**Ocena wpływu stopnia ciężkości
obturacyjnego bezdechu sennego
na wybrane wykładniki
nasilenia procesów patogenetycznych
z uwzględnieniem selektyn
i stresu oksydacyjnego**

Poznań 2013

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Szczepan Cofta

Ocena wpływu stopnia ciężkości
obturacyjnego bezdechu sennego
na wybrane wykładniki
nasilenia procesów patogenetycznych
z uwzględnieniem selektyn i stresu oksydacyjnego

Poznań 2013

Tytuł angielski

The assessment of the influence of the degree of obstructive sleep apnea severity on the chosen parameters of pathogenic processes intensity including selectins and oxidative stress

Recenzja wydawnicza

prof. dr hab. Halina Batura-Gabryel

Korekta wydawnicza

Janina S. Rogalińska

Skład, łamanie i projekt okładki

Bartłomiej Wąsiel

© Copyright by Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu,
Poznań 2013

© Copyright by Szczepan Cofta, Poznań 2013

ISBN 978-83-7597-213-9

WYDAWNICTWO NAUKOWE UNIWERSYTETU MEDYCZNEGO
IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU
ul. Bukowska 70, 60-812 Poznań
www.wydawnictwo.ump.edu.pl

Ark. wyd. 8,7. Ark. druk. 9,3.

Format B5. Zam. 115/13.

Druk ukończono w czerwcu 2013 r.

Spis treści

Wykaz stosowanych skrótów	5
1. Wprowadzenie	7
1.1. Zespół bezdechu sennego – definicje, podział	8
1.2. Obturacyjny bezdech senny (OBS)	9
1.2.1. Epidemiologia	10
1.2.2. Objawy kliniczne.	10
1.2.3. Rozpoznawanie	11
1.2.4. Postępowanie.	15
1.3. Elementy patogenezы OBS.	17
1.4. Powikłania sercowo-naczyniowe i metaboliczne w obturacyjnym bezdechu sennym.	18
1.5. Poszukiwanie elementów wiążących obturacyjny bezdech senny z powikłaniami sercowo-naczyniowymi i metabolicznymi	19
1.6. Selektyny jako cząsteczki adhezyjne włączone w proces zapalenia	24
1.7. Stres oksydacyjny.	25
2. Założenia i cel badań.	27
3. Materiał i metody	29
3.1. Grupa badana	29
3.2. Schemat badania	29
3.3. Metody badawcze	30
3.3.1. Ocena stanu klinicznego pacjenta	30
3.3.2. Ocena polisomnograficzna	31
3.3.3. Badania laboratoryjne we krwi obwodowej	32
3.3.4. Oznaczanie stężeń selektyn	33
3.3.5. Ocena ekspresji genu kodującego L-selektynę w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (PBMC)	33
3.3.6. Oznaczanie parametrów stresu oksydacyjnego	36
3.4. Analiza statystyczna	37
4. Wyniki badań	38
4.1. Charakterystyka badanych grup	38
4.2. Porównania między badanymi grupami	42
4.2.1. Wyniki badań stężeń selektyn	42

4.2.2. Wyniki badań oceny ekspresji genu kodującego L-selektynę w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (PBMC)	43
4.2.3. Wyniki badań parametrów stresu oksydacyjnego	43
4.3. Korelacje w badanych grupach oraz analiza regresji wielokrotnej	50
4.4. Charakterystyka pacjentów o największym stopniu nasilenia zaburzeń oddychania w czasie snu	57
5. Dyskusja	63
5.1. Stężenia selektyn w surowicy i ich zależności od nasilenia obturacyjnego bezdechu sennego	68
5.2. Ekspresja genu kodującego L-selektynę w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (PBMC) i zależność od nasilenia obturacyjnego bezdechu sennego	72
5.3. Wykładniki stresu oksydacyjnego i ich zależności od nasilenia obturacyjnego bezdechu sennego	73
5.4. Zagadnienia związane z sugestiami dotyczącymi klasyfikacji obturacyjnego bezdechu sennego	77
6. Wnioski	79
7. Piśmiennictwo	80
8. Streszczenie	99
9. Summary	103
10. Spis rycin	107
11. Spis tabel	108

Wykaz stosowanych skrótów

AASM	<i>American Academy of Sleep Medicine</i>
AHI	ang. <i>Apnoea-Hypopnoe Index</i> – indeks bezdechów i słyceń oddychania
BiPAP	ang. <i>Bi-Level Positive Airway Pressure</i> – aparat do oddychania pod zmiennym dwupoziomowym dodatnim ciśnieniem
BMI	ang. <i>Body Mass Index</i> – indeks masy ciała
CAMs	ang. <i>Cell Adhesion Molecules</i> – cząsteczki adhezyjne
CBS	centralny bezdech senny
COX-2	enzym cyklooksygenaza-2
CPAP	ang. <i>Continuous Positive Airway Pressure</i> – aparat do oddychania pod stałym dodatnim ciśnieniem – tzw. proteza powietrzna
CRP	ang. <i>C-Reactive Protein</i> – białko C-reaktywne
ELAM-1	ang. <i>Endothelial Leukocyte Adhesion Molecule</i> – cząsteczka adhezji leukocytów do śródbłónka-1
E-sel	E-selektyna
ESS	ang. <i>Epworth Sleepiness Scale</i> – skala senności Epworth
HIFs-1	ang. <i>Hypoxia-Inductible Factors-1</i> – czynniki indukujące hipoksję -1
HOMA-IR	ang. <i>Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance</i> – wskaźnik insulinooporności
hsCRP	ang. <i>high sensitivity C-Reactive Protein</i> – białko C-reaktywne wysokiej czułości
ICAM-1	ang. <i>Intracellular Adhesion Molecule-1</i> – cząsteczka adhezji międzykomórkowej-1
IL-1	interleukina 1
IL-6	interleukina 6
IL-8	interleukina 8
INF- γ	interferon gamma
L-sel	L-selektyna
MPC-1	ang. <i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i> – białko chemotaktyczne monocytów -1
NF- κ B	ang. <i>Nuclear Factor B</i> – czynnik jądrowy κ B
OBS	obturacyjny bezdech senny
ODI	ang. <i>Oxygen Desaturation Index</i> – indeks desaturacji
OGTT	ang. <i>Oral Glucose Tolerance Test</i> – doustny test obciążenia glukozą

NREM	stadia snu wolnych ruchów gałek ocznych (NREM1, NREM2, NREM3)
PAI-1	ang. <i>Plasminogen Activation Inhibitor-1</i> – inhibitor aktywatora plazminogenu-1
PBMC	ang. <i>Peripheral Blood Mononuclear Cells</i> – jednojądrzaste komórki krwi obwodowej
P-sel	P-selektyna
PSG	polisomnografia
RDI	ang. <i>Respiratory Disturbance Index</i> – indeks zaburzeń oddychania
REM	ang. <i>Rapid Eye Movements</i> – faza snu szybkich ruchów gałek ocznych
RFA	reaktywne formy azotu
RFT	reaktywne formy tlenu
RNS	ang. <i>Reactive Nitrogen Species</i> – reaktywne formy azotu
ROS	ang. <i>Reactive Oxygen Species</i> – reaktywne formy tlenu
S _a O ₂	wysycenie hemoglobiny tlenem
TAS	ang. <i>Total Antioxidant Status</i> – całkowity stan antyoksydacyjny
TBARS	ang. <i>Thiobarbituric Acid-Reacting Substances</i> – substancje reagujące z kwasem tiobarbituranowym
TNF-α	ang. <i>Tumor Necrosis Factor-α</i> – czynnik nekrotyczny guza alfa
TNFR	receptor TNF
VCAM-1	ang. <i>Vascular Adhesion Molecule</i> – cząsteczka adhezji komórkowej naczyń-1
VEGF	ang. <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> – śródbłonkowy czynnik wzrostu
xL-sel	ekspresja genu dla L-selektyny
ZOCS	zaburzenia oddychania w czasie snu

1. Wprowadzenie

*A sen? Ach ten świat cichy, głuchy, tajemniczy
Życie duszy, czyż nie jest warte badań ludzi!
Któż jego miejsce zmierzy, kto jego czas zliczy!
Trwoży się człowiek śpiący – śmieje się, gdy się zbudzi.
Mędrcy mówią, że sen tylko przypomnienie –
Mędrcy przekłęci!*

Adam Mickiewicz, *Dziady* – III część – Prolog

Chociaż zainteresowanie snem istniało od dawna i jego tajemnice intrygowały badaczy od wielu wieków [96], to jednak dopiero ostatnie dekady przyniosły możliwość bliższego poznania tego fizjologicznego stanu, który zajmuje tak znaczącą część naszego życia. Już nieaktualne jest więc dalsze zdanie narodowego wieszczka z prologu III części *Dziadów*:

*Ciemności kryją ziemię i lud we śnie leży,
Lecz dlaczego śpią ludzie, żaden z nich nie bada.*

To właśnie w ostatnich latach udało się scharakteryzować i poddać skuteczniejszemu lekarskiemu postępowaniu zaburzenia snu, a przynajmniej ich znaczącą część, związaną z zaburzeniami oddychania. Próbuje się także określić relację zaburzeń snu do objawów świadczących o jego patologii, a związanych ze stanem czuwania. Nadciśnienie tętnicze, zaburzenia rytmu serca, ranne bóle głowy, depresja, zaburzenia osobowości i inne zostały skojarzone z patologią dotyczącą snu.

Sen jest stanem, w którym trwamy przez niemalże jedną trzecią naszego życia. W 1932 roku Walter Hess pisał: *Mechanizm wypoczynku podczas snu jest głęboko utajony i nie w pełni go jeszcze rozumiemy. O jego istnieniu wiemy cokolwiek tylko na podstawie wtórnych objawów, choć stanowi on istotę snu. Wyłączenie narządów zmysłów, zniemczenie mięśni, zahamowanie procesów psychicznych – są to zjawiska drugorzędne, choć sprzyjające procesom odnowy w tkankach* [78]. Po osiemdziesięciu latach to spostrzeżenie wydaje się być nadal istotne, niewiele zostały zmodyfikowane wyobrażenia dotyczące znaczenia snu. Sen jest niezbędny dla przywrócenia sprawności organizmu,

oszczędza ograniczone zasoby energii lub chroni organizm przed wczesnym zużyciem, albo stanowi ochronę przed stresem [23].

Zaburzenia snu mogą nieraz być groźne dla życia, bardzo jednak często mogą odbierać ludziom jego radość będąc źródłem poważnej patologii. Wśród bogatej patologii snu wyróżnia się zaburzenia związane z dyssomniami, parasomniami oraz zaburzenia snu związane z innymi zdrowotnymi zaburzeniami, najczęściej neurologicznymi bądź psychiatrycznymi. Szczególne znaczenie w podejmowanych badaniach mają zaburzenia oddychania podczas snu, a szczególnie wśród nich najczęstsze schorzenie, jakim jest obturacyjny bezdech senny.

Pierwsze doniesienie w poznańskiej prasie medycznej o zespole bezdechu sennego znalazło się w „Nowinach Lekarskich” z 1993 roku [59], pierwszy opis pacjenta leczonego skutecznie z tego powodu ukazał się w tymże czasopiśmie w roku 1995 [39].

1.1. Zespół bezdechu sennego – definicje, podział

Zespół bezdechu sennego (określany nieraz jako zespół bezdechu w czasie snu lub zespół bezdechu śródsennego) jest stanem patologii oddychania podczas snu, polegającym na pojawianiu się nawracających epizodów bezdechów lub słyceń oddychania. Towarzyszy mu chrapanie oraz hipoksemia z następującymi wybudzeniami, prowadzące do fragmentacji snu umniejszających jego jakość. Niszczona jest w ten sposób tzw. *architektura snu*.

Jako bezdech określa się przerwę w oddychaniu trwającą co najmniej 10 sekund (sygnał toru oddychania musi wynosić poniżej 10% referencyjnej amplitudy). Jako słyceń oddychania określa się redukcję przepływu o co najmniej 30%, z desaturacją o co najmniej 4%. W praktyce klinicznej używa się określenia *apnoea-hypopnoe index* (AHI – indeks bezdechów i słyceń oddychania) opisujący liczbę zaburzeń w ciągu godziny, będącą wykładnikiem nasilenia zaburzeń oddychania podczas snu. Używa się także pojęcia *respiratory disturbance index* (RDI), określającego ilość zaburzeń oddychania w czasie godziny snu. Dodatkowo – dla określenia liczby desaturacji podczas godziny – używa się określenia *oxygen desaturation index* (ODI) [43, 83, 129, 161, 233].

Zespół bezdechu sennego jest jednym z elementów grupy schorzeń określanych jako zaburzenia oddychania podczas snu. Stanowią one grupę chorób, które wymieniono w tabeli 1.1. zgodnie z międzynarodową klasy-

fikacją opublikowaną przez American Academy of Sleep Medicine (AASM) [6, 7]. W tabeli 1.2. przedstawione zostały definicje związane z zaburzeniami oddychania podczas snu.

W grupie zaburzeń oddychania podczas snu głównym problemem klinicznym jest obturacyjny bezdech senny, którego wybrane aspekty poddawane są niniejszej analizie.

Tabela 1.1. Uproszczony podział zaburzeń oddychania w czasie snu (ZOCS), zgodnie z międzynarodową klasyfikacją opublikowaną przez American Academy of Sleep Medicine (AASM) [6]

1.	Centralny Bezdech Senny (CBS)
2.	Obturacyjny Bezdech Senny (OBS)
3.	Zespół hipowentylacji / hipoksemii w czasie snu
4.	Zespół hipowentylacji / hipoksemii w czasie snu związany z innymi chorobami
5.	Inne zaburzenia oddychania w czasie snu

Tabela 1.2. Zaburzenia oddychania podczas snu – definicje [6, 43, 83]

Apnoea – bezdech	– przerwa w oddychaniu trwająca co najmniej 10 sekund; sygnał musi wynosić poniżej 10% referencyjnej amplitudy
Hypopnoe – spłylenie oddychania	– obniżenie ciśnienia w jamie nosowej o $\geq 30\%$ przy pomiarze za pomocą przetwornika ciśnieniowego na poziomie nozdrzy przednich, trwające co najmniej 10 s, któremu towarzyszy obniżenie wysycenia krwi tętniczej tlenem (S_aO_2) o $\geq 4\%$ w porównaniu do S_aO_2 w okresie poprzedzającym epizod
Apnoea/Hypopnoe Index (AHI)	– liczba bezdechów i spłyceń oddychania w ciągu godziny – wykładnik nasilenia zaburzeń oddychania podczas snu

1.2. Obturacyjny bezdech senny (OBS)

OBS związany jest z nawracającymi epizodami całkowitego zapadania (*apnea* – bezdechy) lub zwężenia górnych dróg oddechowych (*hypopnoe* – spłylenie oddychania), które dokonują się na poziomie gardła, na którym – za wyjątkiem tylnej ściany – brakuje sztywnego podparcia, przy zachowaniu ruchów klatki piersiowej i brzucha. Powtarzające się sekwencje zdarzeń związane są z niedotlenieniem oraz – często nieświadomymi – przebudzeniami. Wzrost napięcia mięśni górnych dróg oddechowych i gwałtowne otwieranie się gardła powodują wzmożoną wibrację tkanek miękkich, która objawia się chrapaniem [6, 43, 161].

1.2.1. Epidemiologia

Przyjmuje się, że częstość występowania OBS w populacji dorosłych wynosi ok. 4% wśród mężczyzn oraz ok. 2% wśród kobiet [226]. W zależności od przyjętych kryteriów wyniki prac ukazują, że łagodna postać choroby może dotyczyć od 3 do 28%, a postać umiarkowana od 1 do 14% populacji [15, 18, 19, 70]. Sugeruje się, że istotnymi zaburzeniami oddychania podczas snu obciążonych jest ok. 15% dorosłego społeczeństwa [224, 225]. W polskim badaniu epidemiologicznym, obejmującym 676 badanych (przy przyjęciu jako kryterium schorzenia $AHI > 10$ i przy potwierdzeniu wyniku skali senności Epworth co najmniej 11 punktów), rozpoznano OBS u 7,5% badanych. Potwierdzenie uzyskano niemalże czterokrotnie częściej u mężczyzn niż u kobiet [160].

1.2.2. Objawy kliniczne

Wśród objawów klinicznych istotne znaczenie należy przywiązywać do wzmożonej senności w ciągu dnia. Obecne są przerwy, stwierdzane w oddychaniu podczas snu, chrapanie niemalże u wszystkich chorych, wzmożona aktywność motoryczna nocna, przebudzenia w czasie snu, poranne bóle głowy, nokturia, napady duszności w nocy, zmiany osobowości oraz pogorszenie funkcji intelektualnych [118, 121, 183, 195, 227]. W tabeli 1.3. przedstawione zostały objawy z podziałem na dzienne i nocne.

Wśród następstw OBS wymienia się następstwa medyczne, takie jak nadciśnienie tętnicze [49, 128, 159, 172], chorobę niedokrwinną serca [81, 152], zaburzenia rytmu serca (ze zwiększonym ryzykiem nagłego zgonu) [128, 197], polycytemię, niewydolność serca [189], zwiększone ryzyko udarów mózgu [11, 127, 149, 150, 197, 220, 221], upośledzenie libido

Tabela 1.3. Objawy dzienne i nocne obturacyjnego bezdechu sennego [43]

Objawy dzienne	Objawy nocne
Wzmożona senność Poranne bóle głowy Zmniejszenie napędu życiowego Pogorszenie funkcji intelektualnych Obniżenie zdolności koncentracji Zaburzenia depresyjne	Chrapanie Bezdechy w trakcie snu Sen nieprzynoszący wypoczynku Wzmożona aktywność motoryczna Wybudzenia nocne Uczucie duszności związane z wybudzeniami Nokturia Zmniejszona potencja Zaburzenia rytmu serca

i impotencję [92], pogorszenie funkcji intelektualnych, zmiany osobowości. OBS to także wypadki komunikacyjne spowodowane zaśnięciem za kierownicą [206], trudności funkcjonowania w rodzinie i wśród bliskich, trudności w utrzymaniu pracy zawodowej (podejrzenie o lenistwo) [57, 77, 180, 207]. OBS jest chorobą z istotnymi konsekwencjami dotyczącymi nie tylko pacjentów, ale wpływa także na bezpośrednie otoczenie rodzinne, mając także wymiar szerszy, społeczny.

1.2.3. Rozpoznawanie

W diagnostyce zaburzeń oddychania podczas snu złotym standardem postępowania jest – zgodnie z wytycznymi American Academy of Sleep Medicine – wykonanie badania polisomnograficznego u pacjenta, u którego istnieje podejrzenie takiej patologii. Istnieją cztery klasy urządzeń diagnostycznych, w praktyce badań naukowych korzysta się z urządzeń klasy 1 – pełna polisomnografia (PSG) wykonywana w pracowniach snu bądź klasy 2 – przy użyciu polisomnografii przenośnej (niedozorowanej), która posiada co najmniej 7 kanałów, w tym wszystkie potrzebne do oceny struktury snu i oddychania [31, 83, 98].

Badanie poprzedzone jest szczegółowym wywiadem z wypełnieniem kwestionariusza zaburzeń oddychania w czasie snu, uzupełnionego o skalę senności (najczęściej skala senności Epworth) i badanie przedmiotowe [85]. W badaniu fizykalnym niezwykle częstym objawem jest otyłość bądź nadwaga.

Ograniczone znaczenie mają aparaty klasy 3 (rejestrujące co najmniej 4 zmienne, w tym wysiłek oddechowy, przepływ powietrza oraz utlenowanie krwi) oraz – tym większe – klasy 4 wykonujące badania, podczas których

Tabela 1.4. Kryteria rozpoznawania obturacyjnego bezdechu sennego (wg American Academy of Sleep Medicine oraz European Respiratory Society) [6]

Niezbędne jest spełnienie kryterium A lub B oraz C	
A	Wzmogućona senność dzienna trudna do wytłumaczenia innymi czynnikami
B	Obecność co najmniej 2 czynników spośród poniższych: – uczucie duszenia lub dławienia w nocy – wybudzenia podczas snu – sen nie dający wypoczynku – upośledzona zdolność koncentracji
C	Co najmniej 5 epizodów zaburzeń oddychania podczas snu w ciągu godziny (dotyczy bezdechów, sptyceń oddychania, przebudzeń związanych z wysiłkiem oddechowym)

rejestruje się nie więcej niż dwie zmienne. Aparaty klasy 3 odgrywać mogą istotną rolę w przypadku klinicznie istotnego ryzyka OBS z dużym nasileniem typowych objawów. Nie zapewniają one jednakże rejestracji faz snu [31, 83, 98].

Na rycinie 1.1. przedstawiono obraz ciężkich zaburzeń obturacyjnych w zapisie polisomnograficznym, a na rycinie 1.2. fragment prawidłowego zapisu polisomnogramu.

W tabeli 1.4. przedstawione zostały kryteria rozpoznawania OBS, natomiast w tabeli 1.5. – klasyfikacja stopnia ciężkości OBS w zależności od AHI (*apnoea-hypopnoe index*, tj. indeks bezdechów oraz sptyceń oddychania w czasie godziny snu) oraz senności dziennej.

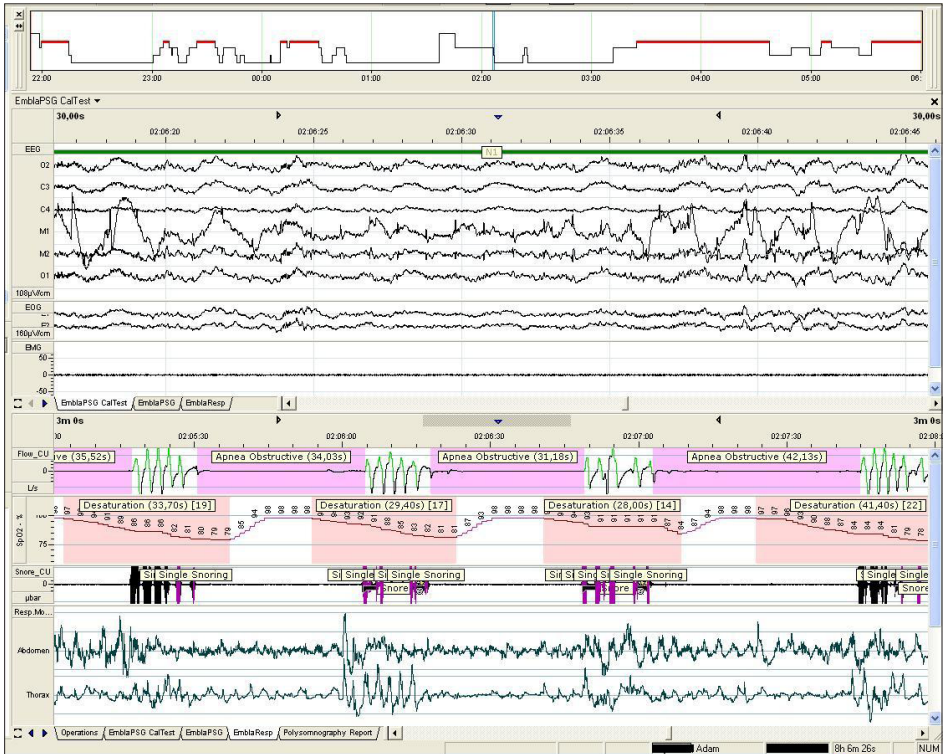
Oprócz nasilenia wskaźnika AHI oraz nasilenia senności dziennej bierze się pod uwagę inne czynniki, takie jak stopień niedotlenienia krwi tętniczej w czasie snu, nasilenie fragmentacji snu oraz współistnienie chorób serca [7, 17, 73].

Przy podejrzeniu OBS należy brać pod uwagę czynniki ryzyka, jakimi są:

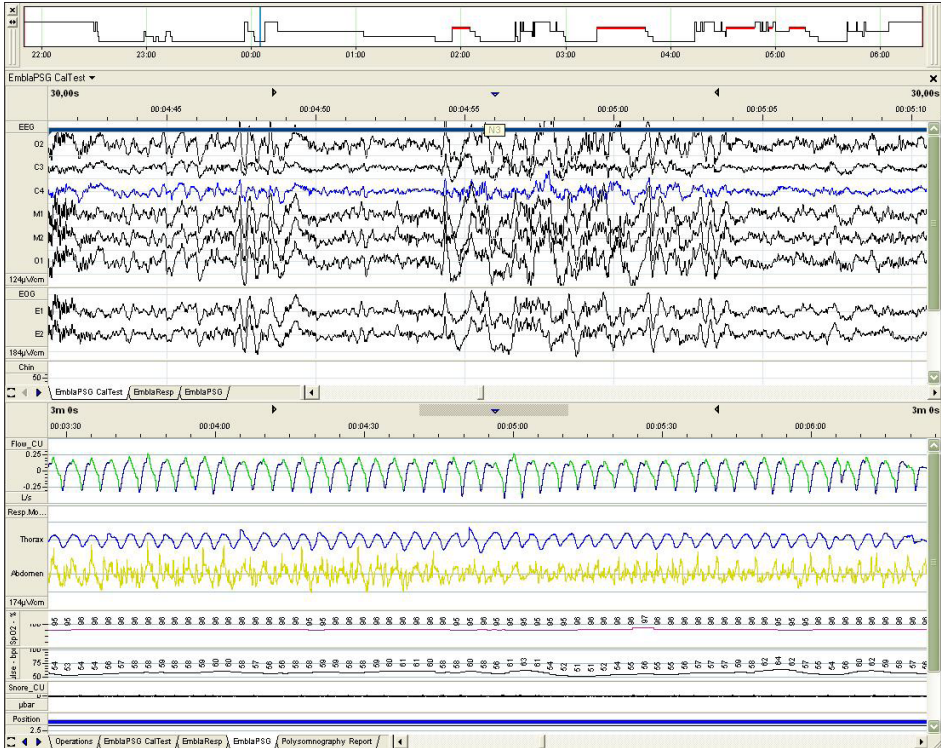
- otyłość (szczególnie górnych części ciała),
- obwód szyi powyżej 43 cm u mężczyzn,
- płeć męska,
- wiek – częstość występowania OBS zwiększa się z wiekiem [143, 175],
- nieprawidłowości anatomiczne twarzoczaszki,
- palenie papierosów,
- spożywanie alkoholu,
- spożywanie leków nasennych,
- zaburzenia endokrynologiczne – akromegalia, hypotyroidyzm [169, 210],
- genetyczne predyspozycje (zespół Downa, Prader-Willi, Pierre Robin) [43, 84, 232].

Tabela 1.5. Klasyfikacja stopnia ciężkości OBS w zależności od AHI (*apnoea-hypopnoe index*, tj. indeks bezdechów oraz sptyceń oddychania w czasie godziny snu) oraz senności dziennej [6]

Łagodny	AHI 5–15 zasypianie w sytuacjach wymagających niewielkiej uwagi (np. czytanie, oglądanie telewizji)
Umiarkowany	AHI 16–30 zasypianie w sytuacjach wymagających większej uwagi (np. zebrania, koncerty, przedstawienia)
Ciężki	AHI > 30 zasypianie w sytuacjach wymagających dużej koncentracji (np. rozmowa, posiłek, kierowanie pojazdem)



Rycina 1.1. Obraz sugerujący ciężkie zaburzenia obturacyjne w zapisie polisomnograficznym pacjenta z Kliniki Pulmonologii, Onkologii i Alergologii Pulmonologicznej. Przykładowy zapis 30-sekundowy badania polisomnograficznego u pacjenta z obturacyjnym bezdechem sennym określający fazy snu (elektrookulografia, elektroencefalografia, elektromiografia). Poniżej – w 3-minutowym odcinku określającym czynności oddechowe – zwracają uwagę cztery epizody znaczących obniżenia wysycenia hemoglobiny tlenem potwierdzone w badaniu pulsoksymetrycznym, jako wyraz zaprzestania przepływu powietrza przez czujniki przy zachowaniu jednoczesnym ruchów klatki piersiowej i brzucha. Zaznaczony jest czas poszczególnych desaturacji (*desaturations*) oraz bezdechów obturacyjnych (*apnea obstructive*). U góry schematu znajduje się tzw. hipnogram ukazujący przekrojowo stadia snu pacjenta podczas nocy badania.



Rycina 1.2. Fragment prawidłowego zapisu polisomnogramu ze zbiorów Kliniki Pulmonologii, Onkologii i Alergologii Pulmonologicznej. W górnej partii (pod tzw. hipnogramem, czyli przekrojowym schematem określonych stadiów snu) zapis tzw. epoki – 30-sekundowy zapis odprowadzeń umożliwiającą identyfikację stadiów snu (elektrookulografia, elektroencefalografia, elektromiografia). Poniżej – w 3-minutowym odcinku określającym „część oddechową” badania – zapis prawidłowy. Wysycenie hemoglobiny tlenem (saturacja) nie ulega istotnym zmianom, zachowane są przepływy przez drogi oddechowe, ruchy klatki piersiowej i brzucha.

Na rycinie 1.3. został przedstawiony mężczyzna z ciężką postacią obturacyjnego bezdechu sennego, diagnozowany i leczony od ok. 10 lat w Klinice Pulmonologii, Alergologii i Onkologii Pulmonologicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.



Rycina 1.3. Mężczyzna z ciężką postacią obturacyjnego bezdechu sennego w Klinice Pulmonologii, Alergologii i Onkologii Pulmonologicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

1.2.4. Postępowanie

Strategia postępowania w OBS zależy jest od stopnia nasilenia oraz innych czynników warunkujących kontekst sytuacji, a także możliwości zaproponowania skutecznych metod leczenia. U wszystkich pacjentów niezbędne jest zachowanie profilaktyki związanej z:

- spaniem w odpowiedniej pozycji (unikanie spania na wznak) [67],
- redukcją masy ciała w przypadku otyłości czy nadwagi [26, 154],
- unikaniem czynników nasilających (alkohol, leki uspokajające) [98].

Rozważane jest ponadto leczenie przy użyciu protez powietrznych – aparatu do oddychania pod stałym dodatnim ciśnieniem CPAP – ang. *continuous positive airway pressure* (leczenie z wyboru) lub aparatu do oddychania z dwupoziomowym dodatnim ciśnieniem BiPAP – ang. *bi-level positive airway pressure* (stosowany przy złej tolerancji CPAP w szczególnych wskazaniach) [97, 136, 137, 201].

W wyborze opcji leczenia rozważa się – po weryfikacji laryngologicznej – leczenie operacyjne korygujące górne drogi oddechowe (m.in. UPPP – uwulopalatofaryngoplastyka), a także stosowanie aparatów ortodontycznych utrzymujących drożność górnych dróg oddechowych, np. przesuujących żuchwę ku przodowi [164]. Stąd każdy pacjent z OBS powinien przejść wnikliwą ocenę laryngologiczną. W tabeli 1.6. przedstawiona została strategia terapeutyczna OBS.

Ważnym elementem postępowania jest ponadto różnicowanie wzmożonej senności dziennej z koniecznością wykluczenia zespołu przewlekłego zmęczenia, uzależnienia lekowego i alkoholowego, nocnych napadów padaczkowych, napadowej senności (narkolepsja). Należy brać pod uwagę kontekst cukrzycy, akromegalii, niedoczynności tarczycy, dystrofii mięśniowej, depresji czy hysterii [164].

Tabela 1.6. Strategia terapeutyczna zespołu obturacyjnego bezdechu sennego (za: McNicholas W. *Sleep apnoea syndrome*, *Breath* 2005;1,219–227, w modyfikacji własnej) [129]

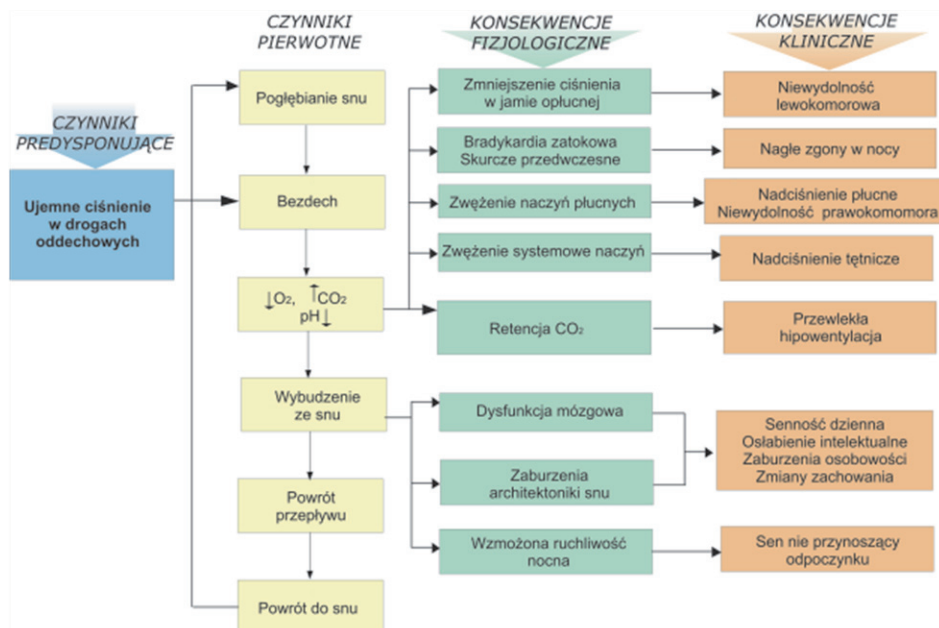
<p>Postać umiarkowana oraz ciężka</p>	<ul style="list-style-type: none"> – oddychanie przy użyciu aparatu z dodatnim ciśnieniem (CPAP) (tzw. proteza powietrzna) jako postępowanie z wyboru – inne terapie w przypadku złej tolerancji powyższej: <ul style="list-style-type: none"> a) do rozważenia ortozy przesuujące żuchwę ku przodowi; b) zabiegi chirurgiczne na górnych drogach oddechowych w wybranych przypadkach oraz jako postępowanie ostatecznego wyboru – aktualne zalecenia dotyczące redukcji masy ciała, unikania podczas snu pozycji na wznak oraz zachowania higieny snu
<p>Postać łagodna oraz umiarkowana</p>	<ul style="list-style-type: none"> – oddychanie przy użyciu aparatu z dodatnim ciśnieniem (CPAP) (tzw. proteza powietrzna) przynosi efekty, jednakże w łżejszych zaburzeniach oddychania gorsza tolerancja leczenia oraz mniejsza subiektywna korzyść – aktualne zalecenia dotyczące redukcji masy ciała, unikania podczas snu pozycji na wznak oraz zachowania higieny snu – do rozważania ortozy przesuujące żuchwę ku przodowi; mogą być w wybranych przypadkach alternatywą do używania protezy powietrznej – zabiegi chirurgiczne na górnych drogach oddechowych mogą przynieść korzyść w wybranych sytuacjach – konieczność indywidualnie podejmowanych decyzji (szczególnie u pacjentów chrapiących z niewielkimi zaburzeniami podczas snu) – proponowane w przeszłości leczenie farmakologiczne zostało zarzucone

1.3. Elementy patogenezы OBS

W powstawaniu OBS istotną rolę odgrywają zaburzenia strukturalne górnych dróg oddechowych (przerośnięte migdałki podniebienne, duży język, długi języczek, wady podniebienia miękkiego, duże fałdy językowo-gardłowe i gardłowo-podniebienne, opadająca nagłośnia, cofnięta żuchwa, przerost małżowin nosowych i skrzywiona przegroda nosa – zazwyczaj wspólnie więcej czynników), a także hypotonia mięśniowa [43, 233].

W OBS dochodzi do przerwania przepływu powietrza na poziomie gardła. Drożność gardła zależy od równowagi dwóch czynników: ujemnego ciśnienia w gardle w czasie wdechu, zbliżającego ściany tej części górnych dróg oddechowych ku sobie oraz przeciwdziałającego zapadaniu się ścian gardła mięśni rozszerzających je. Równowaga uzależniona jest w dużej mierze od trzeciego czynnika: anatomicznego. Do OBS dochodzi właśnie w przypadku zachwiania tej równowagi [185, 186, 187, 192].

W patofizjologii OBS istotne znaczenie mają epizody niedotlenienia mające swoje konsekwencje fizjologiczne, a także zaburzenie architektury snu wynikające z nawracających przebudzeń (*arousals*). Na rycinie 1.4. ukazano



Rycina 1.4. Sekwencje wpływu czynników pierwotnych na konsekwencje fizjologiczne i kliniczne przy istnieniu czynników predysponujących w OBS [za: 158].

sekwencje wpływu czynników pierwotnych na konsekwencje fizjologiczne i kliniczne przy istnieniu czynników predysponujących w OBS.

1.4. Powikłania sercowo-naczyniowe i metaboliczne w obturacyjnym bezdechu sennym

Nie podlega zakwestionowaniu, że OBS jest ważnym czynnikiem ryzyka sercowo-naczyniowego [50, 64, 125, 126, 224]. Dysponujemy wieloma danymi potwierdzającymi wpływ OBS na rozwój i przebieg chorób sercowo-naczyniowych, choć w sytuacji istnienia wielu wspólnych czynników ryzyka poznanie zależności wydaje się być utrudnione [22, 66, 128].

Wśród sercowo-naczyniowych następstw OBS wymienia się przede wszystkim nadciśnienie tętnicze [49, 128, 159, 172], chorobę niedokrwioną serca [81, 152, 153], zaburzenia rytmu serca [128, 197], polycytemię, niewydolność serca [189], a także zwiększone ryzyko udarów mózgu [11, 127, 148, 149, 197, 220, 221].

Badania kliniczne ukazały, że nadciśnienie tętnicze może dotyczyć nawet połowy pacjentów z OBS, jak u niemalże połowy pacjentów z nadciśnieniem tętniczym sugeruje się istotne zaburzenia obturacyjne oddychania w czasie snu [107, 114, 131]. Wiele badań ukazuje jednak niezależność relacji między potwierdzonym polisomnograficznie OBS a nadciśnieniem tętniczym [108, 142, 155].

Sugerowane mechanizmy pokazujące związki OBS z następstwami sercowo-naczyniowymi zostaną ukazane w dalszej części opracowania.

OBS powoduje wystąpienie także zaburzeń metabolizmu glukozy. Powtarzająca się hipoksemia prowadząca do hipoksji tkankowej oraz wybudzenia powodują aktywację: układu współczulnego, tkanki tłuszczowej (ze wzrostem wydzielania leptyny, TNF- α oraz IL-6), a także osi podwzgórze–przysadka–kora nadnerczy, co prowokuje zwiększenie wydzielania kortyzolu. Pobudza to glikogenezę, glukoneogenezę, lipolizę, powoduje wzrost stężenia wolnych kwasów tłuszczowych oraz wydzielanie glukagonu. Dochodzi do rozwoju insulinooporności, upośledzenia tolerancji glukozy i cukrzycy. Związki te zostały potwierdzone w badaniach klinicznych [24, 162, 167]. Ponieważ istnieje ścisły związek OBS oraz cukrzycy II typu z otyłością, niezwykle trudno jest określić niezależny od otyłości wpływ tego najczęstszego zaburzenia oddychania podczas snu na cukrzycę i odwrotnie [38].

W związku z tym niezwykle cenne byłyby w przyszłości badania określające zaburzenia gospodarki węglowodanowej u nieotyłych chorych z OBS.

1.5. Poszukiwanie elementów wiążących obturacyjny bezdech senny z powikłaniami sercowo-naczyniowymi i metabolicznymi

Związek między OBS oraz schorzeniami sercowo-naczyniowymi, a także metabolicznymi porusza szerokie grono zarówno specjalistów zajmujących się zagadnieniami zaburzeń oddychania podczas snu, jak i lekarzy rodzinnych, na co dzień spotykających się z pacjentami obciążonymi tymi schorzeniami. W kilkunastu ostatnich latach próbowano dokonywać pogłębionej analizy czynników wpływających zarówno na rozwój OBS, jak i konsekwencji z nim związanych.

Występowanie chorób sercowo-naczyniowych u pacjentów z OBS jest niezwykle częste. Trzeba dodatkowo zaznaczyć, że wykładniki OBS są częste u pacjentów z patologią sercowo-naczyniową. Potwierdza się ten typ zaburzeń oddychania podczas snu u około 30% pacjentów z nadciśnieniem tętniczym, u ok. 70% pacjentów z nadciśnieniem tętniczym opornym, u ok. 50% pacjentów z migotaniem przedsionków, u około 30% pacjentów z chorobą niedokrwinną serca [109, 115], a także – w kontekście patologii metabolicznej – u około 50% osób z cukrzycą typu drugiego.

Jednym z możliwych wytłumaczeń powyższych faktów jest potwierdzenie, że OBS oraz choroby sercowo-naczyniowe mają istotne wspólne czynniki ryzyka, takie jak płeć męska, wiek, otyłość, siedzący tryb życia [128]. Dodatkowo jednak wypada podejmować refleksję, w jakiej mierze OBS może prowadzić do zaburzeń sercowo-naczyniowych, a także metabolicznych.

Szlaki patofizjologiczne wydają się być modyfikowane w sposób niekorzystny przez OBS w kontekście patofizjologii chorób sercowo-naczyniowych bądź metabolicznych. Związane one są z:

- pobudzaniem układu współczulnego,
- zmianami ciśnienia tętniczego krwi,
- stresem oksydacyjnym,
- zapaleniem systemowym,
- wzmożoną opornością na insulinę,

- dyslipidemią,
- dysfunkcją śródbłonnków [109].

U pacjentów z OBS dochodzi do aktywacji neutrofilii oraz monocytów ze wzmożeniem produkcji reaktywnych form tlenu (ROS – ang. *reactive oxygen species*), a także czynników adhezyjnych oraz cytokin, w tym interleukiny 6 (IL-6) oraz TNF- α (ang. *tumor necrosis factor*) [109].

Sprzeczne są doniesienia odnośnie stężeń we krwi białka C-reaktywnego (CRP). W badaniach Yokoe i wsp. [223] oraz Lui i wsp. [116] stwierdzano wzrost stężeń CRP zależny od nasilenia patologii, które normalizowało się po zastosowaniu leczenia przy użyciu protezy powietrznej (CPAP – ang. *continuous positive airway pressure*) [223]. W innych badaniach nie znaleziono takiej prawidłowości [27, 205].

Uzyskane dowody potwierdzają, że OBS wpływa na procesy sprzyjające rozwojowi miażdżycy i chorób sercowo-naczyniowych, natomiast korekta patologii związana z leczeniem schorzenia może odwrócić ten proces. Potwierdzono, że stosowanie CPAP wpływa modyfikująco na przebieg nadciśnienia tętniczego i zaburzenia rytmu serca [128], zmniejsza ryzyko choroby niedokrwiennej serca [71, 152], zmniejsza ryzyko nawrotów epizodów udaru mózgu [127]. Prowadzi ponadto do poprawy parametrów wydolności serca wpływając na jej przebieg [89, 122, 123].

Możliwość uzyskania poprawy nie ma jednoznacznego wymiaru w przypadku modyfikacji szlaków zaburzeń gospodarki węglowodanowej, gdyż w nielicznych badaniach randomizowanych nie potwierdzono poprawy insulinooporności pod wpływem leczenia aparatem CPAP [46, 99, 211].

W OBS – jak się uważa w ostatnich latach – istotne znaczenie mają procesy zapalenia. Schorzenie to jest związane z obecnością zwiększonych stężeń wielu spośród mediatorów włączonych w procesy nie tylko zapalenia, ale także stresu oksydacyjnego oraz prokoagulacyjnego i trombolitycznego [117]. Stąd w kontekście OBS rozważa się zagadnienia związane z aspektami:

1. zapalenia,
2. stresu oksydacyjnego oraz
3. prokoagulacyjnym i trombolitycznym.

Na uwalnianie mediatorów wpływają nawracające epizody niedotlenienia, a także wybudzenia charakterystyczne dla OBS [10, 102, 103, 104, 105]. Skutki tej patologii mogą prowadzić do rozwoju zarówno chorób sercowo-naczyniowych, jak i patologii metabolicznej związanej z OBS [66, 198].

Choć udało się uchwycić kilka spośród elementów patogenetycznych łączących OBS z patologią sercowo-naczyniową, wymagane są badania okre-

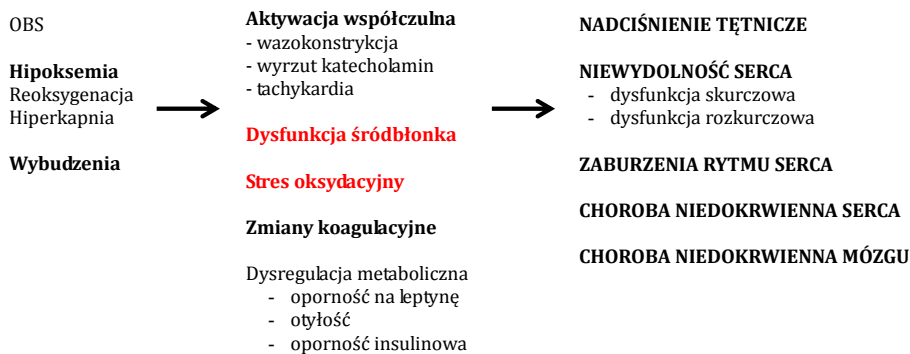
ślające precyzyjnie udział poszczególnych czynników mogących ponosić odpowiedzialność za wzajemne relacje tłumaczące powiązania i formułować mechanizmy. Na rycinie 1.5. przedstawiono propozycję powiązań między czynnikami sprawczymi w OBS, mechanizmami pośrednimi i elementami wzmożonego ryzyka chorób sercowo naczyniowych.

OBS związany jest z nawracającą hipoksją powiązaną z okresowymi przywróceniami właściwej oksigenacji, co stanowi podstawowy element powodujący powstawanie dysfunkcji organizmu. Proces ten może mieć związek z aktywizacją czynników transkrypcyjnych włączonych w proces zapalenia. W badaniach związanych z niedotlenieniem udało się potwierdzić rolę dwóch spośród tych czynników: czynnika jądrowego kappa (ang. *nuclear factor* – NF-κB) oraz czynników indukujących hipoksję (ang. *hypoxia-inductible factors* – HIFs [140]).

W badaniach *in vitro* potwierdzono, że tak jak NF-κB jest aktywowany przez nawracającą hipoksję, tak HIFs aktywowany jest przez hipoksję utrwaloną [177, 178]. W jakiej mierze te eksperymentalne modele znajdują zastosowanie w OBS, pozostaje kwestią do wyjaśnienia.

Czynnik jądrowy kappa jest określeniem zespołu czynników transkrypcyjnych złożonych z szeregu białek (np. p50, p52, p65), które aktywowane są przez wielorakie czynniki, takie jak cytokiny zapalne czy reaktywne formy tlenu. Aktywowany NF-κB przenosi się do jądra, gdzie dochodzi do aktywacji transkrypcji różnorodnych genów odpowiedzialnych za proces zapalenia [193]. To właśnie aktywacja NF-κB prowadzi do powstania pro-

ELEMENT PIERWOTNY → MECHANIZMY POŚREDNIE → RYZYKO SERCOWO-NACZYNIOWE



Rycina 1.5. Propozycja powiązań między czynnikami sprawczymi w OBS, mechanizmami pośrednimi i elementami wzmożonego ryzyka chorób sercowo-naczyniowych (za: Shamsuzzaman A., Gersh B., Sommers V.: *Obstructive sleep apnea. Implications for cardiac and vascular disease.* J.A.M.A. 2003; 290: 1906–1914) [190].

duktów potencjalnie włączanych w patogenezę schorzeń sercowo-naczyniowych lub metabolicznych [135, 193]. Wśród czynników powstających w tym mechanizmie należy wymienić:

- cytokiny oraz chemokiny (np. TNF- α , INF- γ , IL-1, IL-6, IL-8),
- czynniki transkrypcyjne (np. TNFR p55, E-selektyna, P-selektyna, TNFR p55, TNFR p75),
- receptory i białka powierzchniowe (np. p65 RelA, NF- κ B p50),
- inne czynniki (np. PAI-1, COX-2, angiotensynogen).

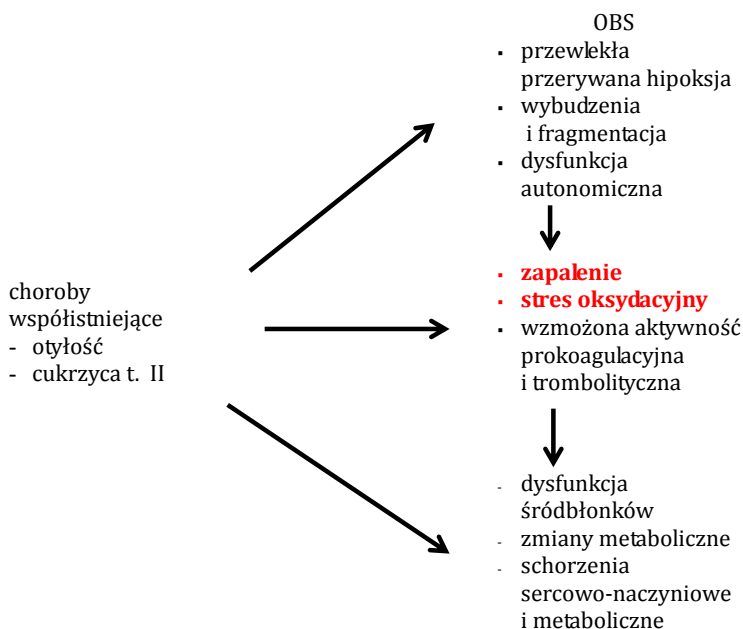
HIF-1 [140] jako czynnik transkrypcyjny indukowany jest przez przewlekłą przerywaną hipoksję. Aktywuje transkrypcję genów kodujących białka zwiększające dopływ tlenu do komórek bądź adaptuje metabolizm komórkowy do zmniejszonej jego podaży [140, 141]. W OBS potwierdzono obecność zwiększonych stężeń dwóch spośród substancji zależnych od HIF-1. Pierwszą z nich jest VEGF (ang. *vascular endothelial growth factor*), kolejną natomiast erytropoetyna. Zwiększenie stężeń VEGF koreluje dobrze ze stopniem nasilenia zaburzeń oddychania podczas snu [216], a także ulega normalizacji podczas leczenia przy użyciu protezy powietrznej (CPAP) [101]. Stężenia VEGF są podwyższone także u pacjentów z otyłością i nadciśnieniem tętniczym [65]. U pacjentów z omawianymi zaburzeniami podczas snu potwierdzono zwiększenie stężeń erytropoetyny w porównaniu z odpowiednią grupą kontrolną wyłącznie w nocy [212], choć w czasie dnia stężenie nie było zmienione [178].

Potwierdzono, że tkanki odpowiadają na przejściową hipoksję w różnoraki sposób. NF- κ B jest głównie aktywowany w komórkach śródbłonna oraz tkance tłuszczowej, natomiast HIF-1 odgrywa podstawową rolę na poziomie zatoki szynnej [66, 140].

Na rycinie 1.6. przedstawiono sugerowane związki między OBS, zapaleniem, stresem oksydacyjnym, zaburzeniami koagulacyjnymi oraz ryzykiem chorób sercowo-naczyniowych związanych z OBS.

W dalszej części Wprowadzenia przedstawionych zostanie kilka uwag dotyczących selektyn jako przykładu cząsteczek adhezyjnych włączonych w proces zapalenia, które – jako jedne z wielu – mogą mieć znaczenie w patologii dokonującej się w OBS, a także wybranych wykładników stresu oksydacyjnego. Dla porządku warto także wspomnieć o trzecim spośród elementów (oprócz zapalenia, stresu oksydacyjnego), mogącym stanowić problem w kontekście OBS – czynnikach prokoagulacyjnych i trombolitycznych [119, 165].

Potwierdzono w przeszłości, że czynniki te związane są z dysfunkcją śródbłonna oraz rozwojem miażdżycy [47]. Stężenia inhibitora aktywatora plazminogenu-1 (PAI-1 – ang. *plasminogen activator inhibitor-1*) są u pacjentów z OBS podwyższone w porównaniu z grupą kontrolną [218, 231].



Rycina 1.6. Sugerowane związki między OBS, zapaleniem, stresem oksydacyjnym, zaburzeniami koagulacyjnymi oraz ryzykiem chorób sercowo-naczyniowych związanych z OBS (za: Lurie A.: *Obstructive sleep apnea in adults: inflammation, oxidative stress and procoagulant thrombotic activity in adults with obstructive sleep apnea*. Adv. Cardiol. 2011; 46: 45–61) [119].

Uzyskano ponadto zmniejszenie jego stężenia po dwutygodniowym leczeniu metodą CPAP [217]. Wątpliwość jednak budzi fakt, że stężenia PAI-1 były podobne u osób z OBS oraz w grupie kontrolnej po uwzględnieniu zależności związanej z ciśnieniem tętniczym krwi oraz BMI [165].

Stężenie fibrynogenu we krwi było podwyższone u pacjentów z OBS w porównaniu z grupą kontrolną [200], choć w grupie pacjentów z OBS ze współistniejącymi schorzeniami sercowo-naczyniowymi było podobne w porównaniu z grupą bez OBS [179]. Ponadto terapia przy użyciu CPAP zmniejszała [34] bądź nie wpływała [171] na stężenia fibrynogenu.

Stwierdzono ponadto zwiększone stężenia czynnika krzepnięcia VII u pacjentów z OBS z nadwagą bądź otyłością oraz z nadciśnieniem, które zmniejszało się po zastosowaniu terapii CPAP [32]. Natomiast badania stężeń D-dimerów u pacjentów z OBS nie przyniosły jednoznacznych wyników [130, 217, 218, 219]. Stąd mechanizmy łączące OBS ze stanem wzmożonej krzepliwości pozostają przedmiotem koniecznej dalszej analizy.

Należy także rozstrzygnąć, czy stężenia P-selektyny jako wykładnika aktywacji płytek korelują ze stopniem nasilenia OBS. W jednym z badań uzyskano takie potwierdzenie [145], jednakże w kolejnym badaniu dane nie potwierdziły tej hipotezy [171].

1.6. Selektyny jako cząsteczki adhezyjne włączone w proces zapalenia

Pozostaje przedmiotem badań, w jakiej mierze w procesach patologicznych związanych z OBS włączone są poszczególne wykładniki stanu zapalnego. Przykładem ich są cząsteczki adhezyjne (CAMs – ang. *cell adhesion molecules*), zwane często adhezynami, stanowiące integralną część białek błon komórkowych i spełniające kryteria białek receptorowych. Pośredniczą w odbiorze informacji ze środowiska zewnętrznego, a następnie jej przekształcaniu i przekazywaniu w formie sygnału do różnych struktur komórkowych. Utrzymują one w stanie fizjologii ciągłość tkankową, zapewniają wymianę sygnałów oraz biorą udział w procesach naprawczych. Biorą także udział w regulacji ważnych funkcji wewnątrzkomórkowych, takich jak różnicowanie, proliferacja, migracja i apoptoza. Występują w dwóch głównych postaciach: jako proteiny transbłonowe bądź rozpuszczalne. Wśród glikoprotein uznanych jako adhezyny wyróżniamy:

- cząsteczki immunoglobulinopodobne (a wśród nich m.in. cząstki adhezji międzykomórkowej – ICAM (ang. *intracellular adhesion molecule*), cząstki adhezji komórkowej naczyń – VCAM (ang. *vascular cell adhesion molecules*),
- kadheryny,
- integryny,
- selektyny oraz
- cząsteczki CD44.

Każde z nich odgrywają istotną – właściwą sobie – rolę w pełnieniu funkcji związanej z adhezją komórek oraz katalizowaniem reakcji międzykomórkowych [75, 79, 100, 113, 196].

Selektyny są grupą molekuł adhezyjnych odgrywających istotną rolę w inicjacji wiązania leukocytów i płytek krwi z powierzchnią śródbłonna. Adhezja z udziałem selektyn polega na zachodzących szybko i cyklicznie procesach adhezji i deadhezji, których wynikiem jest „toczenie się” leukocytów po powierzchni śródbłonna. Po tym właśnie rolowaniu (ang. *rolling*), jako wstępnym etapie adhezji, dochodzi do trwałego wiązania jako etapu następnego, zachodzącego wskutek działania odpowiednich integryn.

Wyróżnia się trzy rodzaje glikoprotein określanych jako selektyny. Wyróżniamy:

- selektynę leukocytarną – L (L-selektyna) obecną na powierzchni leukocytów, a po ich stymulacji uwalnianą i przechodzącą w formę rozpuszczalną,

- selektyne endotelialną – E (E-selektyna) – znajdującą się w stymulowanych komórkach śródbłonna, występującą w powiązaniu z ogniskami zapalnymi oraz
- selektyne płytkową – P (P-selektyna) – magazynowaną w strukturach komórek śródbłonna.

Wszystkie powyższe selektyny składają się z trzech części, określanych domenami:

- lektynopodobnej (fragment zewnątrzkomórkowy),
- transbłonowej oraz
- wewnątrzkomórkowej.

To właśnie charakter każdej z tych trzech domen determinuje przyporządkowanie oraz funkcję. Zasadniczą rolę selektyń jest udział w migracji leukocytów przez ścianę naczyń krwionośnych podczas toczącego się procesu zapalnego [30, 163]. Proces ten określa się jako diapedezę [90, 208].

Jednym z podstawowych wyzwań badań nad OBS wydaje się być zwrócenie uwagi na rolę selektyń jako ogniwa odgrywającego rolę w patologii.

1.7. Stres oksydacyjny

Tlen – będąc podstawowym pierwiastkiem niezbędnym do przebiegu procesów życiowych – potrzebny jest do oddychania, co wiąże się z uzyskiwaniem niezbędnej energii. Ten życiodajny pierwiastek ma także swoje drugie oblicze – poprzez toksyczne formy tlenu i ciąg wywoływanych przez nie reakcji – stwarza zagrożenie organizmom tlenowym. Reaktywne formy tlenu (RFT, ang. ROS – *reactive oxygen species*) są produktami kolejnych stopni redukcji cząsteczki tlenu.

RFT są nieustannie produkowane w naszym organizmie, zwiększenie ich produkcji możliwe jest zwłaszcza w przypadku niewłaściwego utleniania tkanek. Broniąc się przed niekorzystnym działaniem pochodnych tlenu, komórki wykształciły szereg mechanizmów ochronnych w stosunku do wolnych rodników tlenowych – reakcji wolnorodnikowych: tzw. system antyoksydacyjny. Mechanizmy antyoksydacyjne są nieustannie konfrontowane w obliczu czynników nasilających stres oksydacyjny [14, 37, 72, 112].

Nawracająca hipoksja w OBS sprzyja produkcji reaktywnych form tlenu (RFT, ang. ROS – *reactive oxygen species*) oraz reaktywnych form azotu (RFA, ang. RNS – *reactive nitrogen species*). Z tej więc racji pojawiło się w literaturze stwierdzenie, że OBS jest schorzeniem „opartym” na znaczącej

komponencie udziału stresu oksydacyjnego – „an oxydative stress disorder” [102, 103, 104]. Ten aspekt OBS jest w ostatnich latach przedmiotem analiz oraz prób dokonywania syntez [10, 105]. RFT powodują bowiem aktywację czynników transkrypcyjnych (w tym NF- κ B) wpływając na produkcję mediatorów prozapalnych oraz zwiększenie aktywności komórek zapalenia. To właśnie może prowadzić do dysfunkcji śródbłonek i być ogniwem łączącym OBS z powikłaniami sercowo-naczyniowymi przypisywanymi zaburzeniom oddychania podczas snu [10, 102, 104].

Wśród reaktywnych form istotnych w patogenezie stresu oksydacyjnego najważniejszymi są:

- nadtlenek wodoru (H_2O_2),
- anionorodnik ponadtlenkowy ($\cdot O_2^-$),
- tlenek azotu ($\cdot NO$) oraz
- nadtlenoazotyn ($ONOO^-$).

Wymienione powyżej substancje powstają w strukturach organizmu, szczególnie komórkach śródbłonek, mięśni gładkich, a także w komórkach krwi krążącej. RFT oraz RFA wpływają na system sygnałów międzykomórkowych modyfikując funkcjonowanie komórek [72]. Doprowadza to – w przypadku przewagi nad mechanizmami antyoksydacyjnymi – do utlenienia i zniszczenia, nekrozy bądź apoptozy [188]. To z kolei może prowadzić do zapalenia oraz dysfunkcji śródbłonek. Tlenek azotu przechodząc w nadtlenoazotyn prowokuje powstawanie zaburzeń mitochondrialnych, zniszczenie DNA oraz białek. Powoduje peroksydację lipidów oraz uruchamia kaskadę zapalenia. Prowadzić to może – w skrajnych przypadkach – do śmierci komórki [124].

Istotne wydaje się poznanie powyższych mechanizmów w kontekście OBS, zwłaszcza przy sugerowanej wzmożonej produkcji RFT oraz RFA w przypadku nawracających cykli spadku oraz wzrostu wysycenia hemoglobiny tlenem [52, 103].

Stopień nasilenia stresu oksydacyjnego zależy od indywidualnych możliwości obrony przeciw szkodliwemu działaniu wolnych rodników. W aktywności przeciwutleniającej osocza biorą udział: kwas moczowy (35–65%), białka (10–50%), witamina C (prawie 14%) i witamina E (prawie 7%). Ocena aktywności poszczególnych antyoksydantów osocza jest niezwykle złożona [14]. W związku z tym praktycznie może być oznaczanie całkowitej aktywności antyoksydacyjnej osocza obejmującej m.in. hydrofobowe i hydrofilowe związki.

2. Założenia i cel badań

Obturacyjny bezdech senny jako schorzenie o znaczeniu zarówno osobistym, dotyczącym dość dużej grupy ludzi, w przewadze mężczyzn, jak i społecznym, intryguje badaczy i klinicystów w wielorakich aspektach. Jednym z nich – szczególnie w ostatnich latach – jest określenie jego relacji do schorzeń współistniejących oraz z nim związanych.

Wiadomo, że istnieje niezależny związek obturacyjnego bezdechu sennego z wieloma następstwami o charakterze sercowo-naczyniowym oraz metabolicznym. Stwierdzono, że ważnym problemem pozostaje określenie procesów mogących rzutować na rozwój tych następstw, w tym szczególnie ogniw pośrednich patogenezy zmian.

Jako ogniwo pośrednie, wynikające z zaburzeń utlenowania krwi i niedotlenienia tkankowego oraz wybudzeń powodujących modyfikację lub zniszczenie tzw. architektury snu, sugeruje się rolę elementów patogenezy związanych przede wszystkim z procesami przewlekłego zapalenia oraz stresem oksydacyjnym, co prowadzi min. do dysfunkcji śródbłonek. Ważnymi czynnikami oznak patologii na wczesnym etapie zmian są między innymi selektyny.

Nadal niewyjaśniony jest wpływ stopnia zaawansowania zmian w OBS na stopień nasilenia patologii wybranych mechanizmów pośrednich, a także możliwości ich uniknięcia w przypadku optymalnego leczenia obturacyjnego bezdechu sennego.

Ponieważ byłoby wątpliwe etycznie obserwowanie naturalnego przebiegu rozwoju obturacyjnego bezdechu sennego wraz z jego nieuchronnymi następstwami, należy stworzyć model badawczy odwzorowującego różne stopnie nasilenia obturacyjnych zaburzeń oddychania podczas snu. Dla zapewnienia optymalnego modelu istotne byłoby utworzenie porównywalnych grup pacjentów pod względem podstawowych cech klinicznych oraz parametrów antropometrycznych, z wykluczeniem – w możliwie dostępnym sposób – cukrzycy oraz stanów przedcukrzycowych przy obserwowanym różnym stopniu nasilenia zaburzeń oddychania.

Konsekwencją przeprowadzanych badań może być określenie potencjalnie odwracalnych elementów procesu rozwoju patologii współistniejących z OBS, szczególnie w kontekście możliwości zaproponowania skutecznego postępowania.

Cel główny

Na podstawie przedstawionych powyżej przesłanek jako cel pracy określono dokonanie oceny wpływu stopnia ciężkości obturacyjnego bezdechu sennego na wybrane wykładniki nasilenia procesów patogenetycznych z uwzględnieniem selektyn i stresu oksydacyjnego.

Cele szczegółowe

Cele szczegółowe sformułowano następująco:

1. Analiza stężeń we krwi cząsteczek adhezyjnych – selektyn oraz ekspresji genu dla L-selektyny u pacjentów w różnych stopniach nasilenia obturacyjnego bezdechu sennego oraz porównanie z grupą osób bez rozpoznanych zaburzeń oddychania w czasie snu.
2. Ocena wybranych parametrów stresu oksydacyjnego u chorych z różnym stopniem nasilenia obturacyjnego bezdechu sennego, a także porównanie z grupą osób bez rozpoznanych zaburzeń oddychania w czasie snu.
3. Określenie ewentualnej przydatności diagnostycznej tych biomarkerów do klasyfikacji ciężkości OBS.

3. Materiał i metody

3.1. Grupa badana

Badanie objęło 100 mężczyzn, w wieku od 34 do 64 lat, zakwalifikowanych do diagnostyki obturacyjnego bezdechu sennego w Pracowni Zaburzeń Oddechania podczas Snu Katedry i Kliniki Pulmonologii, Alergologii i Onkologii Pulmonologicznej w ramach pobytu w Oddziale Pulmonologii, Alergologii i Onkologii Pulmonologicznej Szpitala Klinicznego *Przemienienia Pańskiego* Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, w czasie od 1 października 2010 roku do 30 września 2012 roku.

Pacjenci wyrazili świadomą, pisemną zgodę na proponowany zakres badań. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetyki przy Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu uchwałą nr 740/10 z dnia 2 września 2010 roku.

Kryterium kwalifikacji do pobytu szpitalnego i badania było kliniczne podejrzenie OBS podjęte na podstawie wywiadu zebranego przez lekarza od pacjenta oraz często osób z otoczenia domowego, z uwzględnieniem analizy charakterystycznych objawów, schorzeń współistniejących, przeprowadzonego badania przedmiotowego.

Kryteria wyłączenia stanowiły: przewlekłe choroby zapalne, choroby nowotworowe, przewlekła choroba nerek, przewlekłe choroby wątroby, cukrzyca, przebyty udar mózgu, przebyty zawał mięśnia sercowego, stwierdzone choroby naczyń obwodowych, niewydolność oddychania i serca. Z badania wyłączono osoby palące papierosy (wśród nich 24 osoby to byli palacze). W celu uniknięcia odmienności związanych z płcią do badania włączono tylko mężczyzn.

3.2. Schemat badania

Pacjent przyjęty do Pracowni został poddany ogólnej ocenie stanu klinicznego w badaniu podmiotowym i przedmiotowym ze szczególnym uwzględnieniem aspektów charakterystycznych dla podejrzewanego schorzenia.

Przeprowadzono test doustnego obciążenia glukozą (OGTT), zgodnie z zaleceniami. Z dalszego etapu wykluczono osoby ze świeżo wykrytą cukrzycą (glikemia na czczo $\geq 7,0$ mmol/l dwukrotnie lub glikemia w 2 godz. po obciążeniu glukozą $\geq 11,1$ mmol/l) oraz stanami przedcukrzycowymi: nieprawidłową glikemią na czczo (5,6–6,9 mmol/l) oraz upośledzoną tolerancją glukozy (glikemia na czczo $< 7,0$ mmol/l i glikemia w 120' 7,8–11,0 mmol/l) [8, 9, 229, 230].

W trakcie kwalifikacji do badania przeanalizowano uzyskane wyniki badań biochemicznych w surowicy krwi: kreatynina, AspAt, ALAt, bilirubina, sód, potas. Osoby z podejrzeniem patologii dyskwalifikowano z dalszych etapów.

Następnie pacjenci zostali poddani rutynowemu w diagnostyce OBS badaniu polisomnograficznemu (PSG).

Przeprowadzenie badania polisomnograficznego pozwoliło wyodrębnić grupy badanych bez obturacyjnego bezdechu śródsewnego (grupa porównawcza) oraz z różnym stopniem nasilenia patologii w oparciu o obowiązującą klasyfikację choroby z podziałem na łagodną, umiarkowaną i ciężką (OBS-1, OBS-2 oraz OBS-3) [6, 7].

Pacjentów poddano pobraniu krwi do badań laboratoryjnych scharakteryzowanych poniżej zgodnie z obowiązującymi procedurami.

Dodatkowo u pacjentów wykonywano rutynowe badania czynnościowe układu oddechowego, w tym spirometrię, pletyzmografię i dyfuzję gazów dla tlenu węgla (przy użyciu aparatu Jaeger 2005) oraz gazometrię krwi włosniczkowej dla wykluczenia poważnych zaburzeń czynnościowych.

Ostatecznie utworzono grupy: porównawczą o liczebności 24 osób, OBS-1 o liczebności 24 osób, podobnie w grupie OBS-2 – 24 osoby, natomiast w grupie OBS-3 – 28 osób.

3.3. Metody badawcze

3.3.1. Ocena stanu klinicznego pacjenta

Ocena stanu klinicznego pacjenta została dokonana w oparciu o wywiady oraz badanie przedmiotowe wynikające ze standardów postępowania podczas hospitalizacji wg kwestionariusza historii choroby obowiązującej w Katedrze i Klinice Pulmonologii, Alergologii i Onkologii Pulmonologicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, z uwzględnieniem aspek-

tów schorzeń współistniejących i prowadzonej terapii. Dokonano ponadto pomiarów obwodów szyi, talii, masy ciała, wzrostu. Wyliczono wskaźnik masy – BMI. Zmierzono wartość skurczowego (SBP – ang. *systolic blood pressure*) i rozkurczowego (DBP – ang. *diastolic blood pressure*) ciśnienia tętniczego krwi, dwukrotnie na ramieniu kończyny górnej lewej, po 15-minutowym odpoczynku w pozycji siedzącej.

Dokonano oceny senności dziennej przy użyciu odpowiedniej skali senności Epworth (Epworth Sleepiness Scale – ESS), składającej się z 8 pytań o możliwość zaśnięcia w konkretnych sytuacjach życiowych [87]. Badani mieli możliwość wyboru jednej z odpowiedzi: zero oznaczało, że zaśnięcie jest niemożliwe, jeden – małe, dwa – średnie, a trzy – wysokie prawdopodobieństwo zaśnięcia w sytuacjach typowych. Skala została przedstawiona w tabeli 3.1. Suma punktów może wynosić od 0 do 24. Nasiloną senność dzienną rozpoznaje się, jeśli suma odpowiedzi wynosi co najmniej 11 punktów [86, 87].

Tabela 3.1. Skala senności Epworth

	Brak (0)	Małe (1)	Średnie (2)	Duże (3)
1. Siedząc lub czytając				
2. Oglądając telewizję				
3. Siedząc w miejscu publicznym, np. w teatrze, na zebraniu, w kościele				
4. Podczas godzinnej jazdy autobusem, koleją lub samochodem jako pasażer				
5. Po południu, leżąc				
6. Podczas rozmowy, siedząc				
7. Po obiedzie, siedząc w spokojnym miejscu				
8. Prowadząc samochód np. podczas kilkuminutowego oczekiwania w korku				
Suma punktów:				

3.3.2. Ocena polisomnograficzna

Ocena zaburzeń oddychania podczas snu została dokonana przez wykonanie pełnej polisomnografii przy użyciu aparatu klasy 1, spełniającego kryteria obowiązujące w diagnostyce zaburzeń oddychania podczas snu [31, 68, 83, 97]. Pacjenci byli poddani badaniu nocnemu przy użyciu jednego z trzech pozostających do dyspozycji Kliniki aparatów EMBLA S4000 –

Remlogic z oprogramowaniem Somnologica Studio 5.0. (USA) – aparaty wyprodukowano w latach 2008, 2009 oraz 2011.

Chory miał możliwość spania w każdej pozycji tak, aby sen był w jak najmniejszym stopniu zakłócony.

Dokonano analizy manualnej stadiów snu – weryfikując zapis uzyskany automatycznie – określając je na podstawie poszczególnych jednostek zapisu PSG, zwanych *epokami*, analizowanymi w trwających 30 s fragmentach. Jeśli wykładniki więcej niż jednego stadium snu były obecne w *epoce*, przypisano to stadium, które przeważało w danym fragmencie [83, 166, 194].

Przeprowadzając interpretację czynności oddechowej dokonano analizy zapisu z przedstawionych poniżej czujników:

1. czujnika termistorowego do rejestracji przepływu powietrza przez usta i przez nos (pozwalającego na wykrycie bezdechów),
2. kaniuli nosowej do pomiaru ciśnienia nosowego (pozwalającego na wykrycie bezdechów i spłyconego oddechu),
3. czujnika do wykrywania ruchów oddechowych klatki piersiowej,
4. czujnika do wykrywania ruchów oddechowych brzucha,
5. czujnika pulsoksymetrycznego do rejestracji wysycenia krwi tętniczej tlenem (S_aO_2),
6. czujników elektrokardiografii,
7. czujnika pozycji ciała.

Bezdechy oraz spłyconia oddychania były klasyfikowane zgodnie z obowiązującymi standardami opisanymi powyżej. Użyto indeksu bezdechów i spłyceń oddychania parametru (AHI) jako wykładnika umożliwiającego podziału pacjentów na grupy. Dokonano podział na pacjentów z OBS łagodnym przy AHI 5–15, umiarkowanym przy AHI 16–30 oraz ciężkim przy AHI > 30 [6, 7]. Odpowiednio oznaczono grupy jako OBS-1, OBS-2 oraz OBS-3.

3.3.3. Badania laboratoryjne we krwi obwodowej

W trakcie pobytu pacjenta dokonano rutynowych oznaczeń we krwi: morfologii krwi obwodowej (przy użyciu analizatora Advia 2120i firmy Siemens), hsCRP, stężeń glukozy, cholesterolu, cholesterolu-HDL, triglicerydów (przy użyciu analizatora Dimension EXL with LM firmy Siemens), a także gazometrii krwi włósniczkowej (przy użyciu aparatu RapidLab 1240 firmy Siemens) według odpowiednich szpitalnych procedur.

Krew pobierano z okolicy zgięcia łokciowego do trzech probówkostrzykawek (zestawy Monovette, Sarstedt, Niemcy), w ilości około 16 ml każdorazowo, dla uzyskania krwi pełnej EDTA, krwi pełnej heparynizowanej oraz surowicy. Krew pełna EDTA posłużyła do oceny morfologii

krwi obwodowej oraz do izolacji PBMC (ang. *peripheral blood mononuclear cells* – jednojądrzastych komórek krwi obwodowej). Osocze krwi heparynizowanej przeznaczono do oznaczenia stężeń glukozy, parametrów lipidowych, całkowitego stanu antyoksydacyjnego (ang. *total antioxidant status*, TAS) i produktów peroksydacji lipidów (ang. *thiobarbituric acid-reacting substances*, TBARS). Część surowicy natychmiast zamrożono w temp. -25°C dla oznaczenia stężenia insuliny, stężenia L-selektyny, P-selektyny i E-selektyny.

Stężenie insuliny mierzono metodą immunoenzymatyczną przy użyciu odczynników firmy BioSource (Nivelles, Belgia) i czytnika mikroplótek Sunrise™ firmy Tecan Group Ltd (Männedorf, Szwajcaria), z czułością analityczną 0.15 mU/l. Współczynniki zmienności (ang. *coefficients of variation*, CV), wewnątrzseryjnej i międzyseryjnej, wynosiły odpowiednio: 3.8% i 4.5%. Wskaźnik insulinooporności HOMA-IR (ang. *homeostasis model assessment of insulin resistance*) – [mmol·mU·l⁻²] wyliczono ze wzoru: $HOMA-IR = G \cdot 0' \cdot Ins / 22,5$.

3.3.4. Oznaczanie stężeń selektyn

Oznaczono wykładniki początkowych etapów aterosklerozy – stężenie cząstek adhezyjnych w surowicy, pochodzących ze śródbłonna (E-selektyna), z leukocytów (L-selektyna) i płytek krwi (P-selektyna) – metodami immunoenzymatycznymi (zestawy odczynnikowe ELISA firmy R&D Systems, czytnik mikroplótek Sunrise™ Tecan).

3.3.5. Ocena ekspresji genu kodującego L-selektynę

w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (PBMC)

Badania zostały przeprowadzone na komórkach PBMC (ang. *peripheral blood mononuclear cells*), uzyskanych z krwi obwodowej pobranej na EDTA poprzez wirowanie w gradiencie gęstości Ficollu, a następnie zamrożonych w temperaturze -80°C według poniżej przedstawionych procedur:

1. izolacja całkowitego RNA, przeprowadzona wg zmodyfikowanej metody Chomczyńskiego-Sacci [35],
2. reakcja odwrotnej transkrypcji (RT PCR, ang. *Reverse Transcription PCR*) – synteza cDNA (przy użyciu odczynników Roche Diagnostics),
3. ocena ekspresji genu kodującego L-selektynę metodą PCR w czasie rzeczywistym z wykorzystaniem sond hydrolizujących typu TaqMan (Roche Diagnostics).

1. Izolacja RNA

Całkowity RNA izolowano według zmodyfikowanej metody Chomczyńskiego i Sacchi [35]. Jednojądrzaste komórki krwi obwodowej (PBMC, ang. *peripheral blood mononuclear cells*) poddano lizie mieszaniną fenolu i izotiocyanianu guanidyny (1ml) (TRI, Sigma-Aldrich, Deisenhofer, Germany). Do prób dodawano następnie chloroform w objętości równej 1/5 objętości odczynnika TRI (200 μ l). Przygotowane w ten sposób próby wytrząsano i inkubowano na lodzie przez 5 minut. Po inkubacji próby wirowano przez 15 minut, w temperaturze 4°C, 15000 x g. W wyniku wirowania próby rozdzielały się na trzy warstwy:

1. fazę wodną (zawierającą RNA),
2. fazę pośrednią (interfazę z cienką warstwą DNA) oraz
3. fazę fenolowo-chloroformową zawierającą białko i struktury subkomórkowe.

Do dalszej izolacji pobierano 500 μ l fazy wodnej i przenoszono do nowych probówek. RNA wytrącano przez dodanie izopropanolu w stosunku objętościowym 1:1. Przygotowane w ten sposób próby umieszczano w zamrażarce w temperaturze -80°C. Po upływie 24 godz. probówki wirowano przez 15 minut w temperaturze 4°C, 15000 x g. Po odwirowaniu usuwano supernatant, a powstały osad RNA przemywano dwukrotnie przy użyciu schłodzonego 75% etanolu, wirowano przez 15 minut w temperaturze 4°C, 15000 x g, a następnie suszono. Wyszuszony osad RNA rozpuszczano w 10 μ l wody dejonizowanej, wolnej od RNaz. Tak przygotowany RNA wykorzystywano jako matrycę do syntezy cDNA w procesie odwrotnej transkrypcji, do której użyto 1 μ g całkowitego RNA.

Do analizy ilościowo-jakościowej prób RNA użyto pomiaru spektrofotometrycznego.

2. Odwrotna transkrypcja

Reakcje odwrotnej transkrypcji przeprowadzano w 1,5 ml probówkach (Eppendorf). Całą procedurę wykonywano pod komorą laminarną na lodzie. Objętość RNA, jaką wzięto do przepisania na cDNA poszczególnych prób przeliczono na 1 μ g. Do RNA znajdującego się w probówce dodawano 4 μ l dNTP (2,5 mM każdego dNTP), 1 μ l oligo(dT)23 (0,5 μ g/ μ l) oraz 0,5 μ l wody dejonizowanej. Probówkę wytrząsano, krótko wirowano i umieszczano na 5 minut w 65°C w termobloku (Eppendorf-thermomixer comfort, Niemcy), w celu denaturacji RNA. Następnie probówkę umieszczano w lodzie na 2 minuty, wirowano, ponownie umieszczano w lodzie i dodawano następujące składniki: 4 μ l pięciokrotnie stężonego buforu First

Strand Buffer (Invitrogen), 2 μ l DTT 0,1 M (Invitrogen), 0,5 μ l odwrotnej transkryptazy SuperScriptTM II Reverse Transcriptase 200 U/ μ l (Invitrogen) oraz 0,25 μ l inhibitora rybonukleaz Rnase OUT 40 U/ μ l (Invitrogen). Probówkę wytrząsano, a następnie krótko wirowano i umieszczano w termobloku. Syntezę cDNA przeprowadzano przez 50 minut w temperaturze 37°C. Następnie próbki umieszczano na 15 minut w drugim termobloku w 65°C w celu zatrzymania reakcji. Uzyskany cDNA służył jako matryca do reakcji RQ-PCR (ang. *real-time quantitative PCR*).

3. Amplifikacja cDNA w czasie rzeczywistym

Poziom ekspresji genu L-selektyny został oznaczony techniką RQ-PCR za pomocą aparatu LightCycler 480 Instrument (Roche) oraz oprogramowania LightCycler Software 1.5. Powstawanie produktów PCR monitorowano poprzez pomiar sygnału fluorescencji emitowanej przez sondy zastosowane w reakcji (Tabela 3.2.). Użycie swoistych sond hydrolizujących (typu *TaqMan*), znakowanych fluorescencyjnie, umiejscowionych pomiędzy parą starterów PCR, rozwiązuje problem nieswoistości fluorescencyjnej obecnej przy zastosowaniu barwnika SYBR Green I. W metodzie *TaqMan* wykorzystuje się swoistą dla amplifikowanego fragmentu DNA sondę, wyznakowaną na końcach cząsteczkami fluorochromów. Na końcu 5' sondy znajduje się barwnik reporterowy, a na końcu 3' cząsteczka wygaszająca fluorescencję. Kiedy sonda jest nienaruszona, wygaszacz znajdujący się blisko reportera wygasza jego fluorescencję. Podczas reakcji PCR sonda zostaje zdegradowana dzięki aktywności 5' nukleazowej polimerazy. Rozdział obu fluorochromów umożliwia emisję fluorescencji przez reporter. Wzrost fluorescencji monitorowany jest po każdym zakończonym cyklu elongacyjnym. Poziom fluorescencji jest wprost proporcjonalny do ilości powstającego produktu.

Reakcję RQ-PCR prowadzono na płytkach 96-dołkowych. Do poszczególnych dołków naniesiono odpowiednio po 1 μ l cDNA, 1 μ l startera 5'→3' oraz startera 3'→5', a także 1 μ l sondy komplementarnej do sekwencji danego genu. Do każdego dołka naniesiono wówczas 7 μ l mieszaniny reakcyjnej, której skład był następujący:

- 5 μ l LightCycler 480 Probes Master,
- 2 μ l H₂O.

Reakcja RQ-PCR obejmowała następujące etapy:

- denaturacja wstępna: 95° C, 10 min. (aktywacja polimerazy),
- oznaczenie ilościowe ekspresji genów (50 cykli),
- denaturacja: 95° C, 10 sek. (rozdzielenie nici DNA),
- przyłączanie starterów: 60° C, 30 sek.,

- wydłużanie starterów (synteza nici komplementarnej): 72° C, 1 sek.,
- chłodzenie aparatu.

Wyniki oznaczeń ilościowych badanych cDNA normalizowano względem standardu wewnętrznego, czyli cDNA genu konstytutywnego (ang. *house-keeping gene*), którego ekspresja jest względnie stała i nie podlega regulacji pod wpływem czynników zewnętrznych. Jako standard wewnętrzny zastosowano cDNA genu kodującego dehydrogenazę aldehydu 3-fosfoglicerynowego (GAPDH, ang. *glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase*). Ekspresja genu dla L-selektyny znormalizowana względem GAPDH (xL-sel*10³), z powodu rozproszenia wyników, została również przedstawiona w formie logarytmu, log (xL-sel*10²).

Tabela 3.2. Startery i sondy wykorzystane w reakcji RQ-PCR

cDNA	Amplikon	Startery F (<i>forward</i>) i R (<i>reverse</i>)
<i>L-selectin</i> sonda 23	75nt	F: 5'ATTTCGCCCCTCATTTATCC 3'
		R: 5'CCTCAGAAAAGACAAAAGCTGA3'
<i>GAPDH</i> sonda 23	112nt	F: 5'CGTAGCTCAGGCCTCAAGAC 3'
		R: 5'GCTGCGGGCTCAATTTATAG 3'

3.3.6. Oznaczenie parametrów stresu oksydacyjnego

Oznaczono wybrane parametry stresu oksydacyjnego: stężenie całkowitego stanu antyoksydacyjnego (Total Antioxidant Status, TAS) osocza oraz stężenie produktów peroksydacji lipidów w osoczu (TBARS) – metodami spektrofotometrycznymi.

Metoda oznaczania TBARS w osoczu oparta była na reakcji kwasu tiobarbiturowego z dialdehydem malonowym, produktem peroksydacji lipidów. Osoczowe produkty peroksydacji lipidów mierzone były jako stężenie substancji reagujących z kwasem tiobarbituranowym wg metody Okhawy [148, 222]. Oznaczenia przeprowadzono przy użyciu odczynników firmy Sigma na spektrofotometrze Specord M40. Współczynniki zmienności (CV), wewnątrzseryjnej i międzyseryjnej, dla pomiarów TBARS wynosiły odpowiednio 1,8% i 3,7%.

Całkowity stan antyoksydacyjny oznaczano metodą kolorymetryczną, stosując zestaw odczynnikowy Randox Total Antioxidant Status (firmy Randox Laboratories Ltd Wielka Brytania) na spektrofotometrze StatfaxTM 1904 Plus (Awareness Technology, Inc., USA).

Metoda opiera się na reakcji ABTS (2,2'-Azyno-di-[3-etylobenzotiazoliny siarczan]) z peroksydazą (metmioglobina) i H₂O₂. Produktem tej reakcji

jest kationorodnik ABTS*. Antyoksydanty obecne w dodanej próbce osocza hamują reakcję, a stopień zahamowania reakcji barwnej jest proporcjonalny do stężenia przeciwutleniaczy w badanej próbce.

Kontrolę dokładności i powtarzalności prowadzono używając surowic kontrolnych: Randox Total Antioxidant Control. Współczynniki zmienności (CV), wewnątrzseryjnej i międzyseryjnej, dla pomiarów TAS wynosiły odpowiednio 1,5% i 3,8%.

Badania z zakresu oznaczenia selektyn oraz wykładników stresu oksydacyjnego przeprowadzono w Zakładzie Biochemii Klinicznej i Medycyny Laboratoryjnej Katedry Chemii i Biochemii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

Badanie z zakresu biologii molekularnej (ocena ekspresji genu kodującego L-selektynę w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (PBMC) wykonano w Katedrze i Zakładzie Histologii i Embriologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

3.4. Analiza statystyczna

Analiza statystyczna uzyskanych wyników została przeprowadzona przy użyciu programu Statistica 10.0 (StatSoft Inc., USA). We wszystkich testach jako istotną statystycznie uznano wartość $p < 0,05$.

W całej badanej populacji oraz grupach dla badanych parametrów przeprowadzono weryfikację rozkładu normalnego przy użyciu testu Shapiro-Wilka. Wobec braku potwierdzenia rozkładu normalnego do kolejnych analiz statystycznych zastosowano testy nieparametryczne. Wszystkie analizowane dane przedstawiono w postaci mediany oraz pierwszego i trzeciego kwartyła [134].

Porównanie parametrów między wieloma badanymi grupami wykonywano metodami analizy wariancji testem Kruskala-Wallisa oraz metodą wielokrotnych porównań, *post hoc*, testem Dunna. Dla zbadania istotności różnicy pomiędzy dwoma grupami używano testu U Mann-Whitney'a. Korelacje oceniano w oparciu o przyjęte przez Spearmana wartości krytyczne. Siłę związku między zmiennymi klasyfikowano na podstawie wartości współczynnika korelacji jako nikłą $R < 0,0$; słabą $0,1 \leq R < 0,3$; przeciętną $0,3 \leq R < 0,5$; wysoką $0,5 \leq R < 0,7$; bardzo wysoką $0,7 \leq R < 0,9$; prawie pełną $0,9 \leq R < 1$ [199]. Przeprowadzono analizę regresji wielokrotnej.

4. Wyniki badań

Na podstawie badania polisomnograficznego dokonano podziału pacjentów na grupy. Bezdechy oraz sypnięcia oddychania – klasyfikowane zgodnie z obowiązującymi standardami – użyto w formule indeksu bezdechów i sypnięć oddychania parametru (AHI) jako wykładnika umożliwiającego podział pacjentów.

Dokonano podziału na pacjentów z OBS łagodnym przy AHI 5–15, umiarkowanym przy AHI 16–30 oraz ciężkim przy AHI > 30 [6, 7]. Odpowiednio oznaczono grupy jako OBS-1, OBS-2 oraz OBS-3. Grupę porównawczą (P) stanowiły osoby, u których nie potwierdzono OBS, choć prowadzono diagnostykę w jego kierunku w związku z zaistniałym podejrzeniem.

W trakcie kwalifikacji do badania część osób z rozpoznaniem OBS prezentowała podwyższone wartości ciśnienia tętniczego. Zalecono dalsze monitorowanie i leczenie nadciśnienia tętniczego pod opieką lekarza rodzinnego. Nadciśnienie tętnicze rozpoznano uprzednio w grupie P – u 4/24 pacjentów (16,7%), grupie OBS-1 u 9/24 pacjentów (37,5%), w grupie OBS-2 u 10/24 pacjentów (41,7%), a w grupie OBS-3 u 16/28 pacjentów (57,1%).

4.1. Charakterystyka badanych grup

Charakterystykę grup badanych, tj. pacjentów z różnym stopniem nasilenia OBS oraz grupy porównawczej bez rozpoznania schorzenia przedstawiono w tabelach 4.1. oraz 4.2.

Porównując grupy pacjentów P, OBS-1, OBS-2 oraz OBS-3 nie stwierdzono różnic w zakresie wieku, talii, BMI, ciśnienia krwi skurczowego oraz rozkurczowego.

Badane grupy różniły się obwodem szyi ($p = 0,0257$); najwyższe wartości obserwowano w grupie OBS-3 w porównaniu z grupą OBS-1 (w teście Dunna: $p = 0,0097$).

Ponadto nie stwierdzono różnic dotyczących zarówno czasu snu oraz czasu czuwania podczas badania PSG, podobnie odsetek poszczególnych

Tabela 4.1. Charakterystyka badanych grup oraz ich porównanie. Wyniki przedstawiono jako medianę oraz zakres międzykwartyłowy. Grupy: P – porównawcza (n = 24); OBS-1 (AHI – 5–15) (n = 24); OBS-2 – AHI (16–30) (n = 24); OBS-3 (AHI – > 30) (n = 28)

	P n = 24	OBS-1 n = 24	OBS-2 n = 24	OBS-3 n = 28
Wiek [lat]	53,5 (44,0–60,0)	57,0 (48,0–60,5)	55,5 (52,0–59,5)	54,5 (41,5–60,5)
BMI [kg/m ²]	27,9 (26,2–32,3)	28,7 (27,0–31,9)	31,0 (28,1–32,7)	31,1 (28,1–34,4)
Obwód szyi [cm]	42 (41–43)	41 (40–43)*	42 (41–44)	43 (42–45)*
Obwód talii [cm]	100 (93–108)	100 (93–110)	102 (98–110)	108 (100–113)
ESS	4 (2–6)	5 (4–7)	9 (5–11)	11 (7–14)
AHI	2,3 (1,7–3,5)	8,0 (7,0–11,6)	21,2 (18,0–25,3)	51,1 (37,3–64,8)
SBP [mmHg]	130 (122–140)	132 (120–140)	130 (130–140)	138 (130–148)
DBP [mmHg]	80 (75–87)	80 (80–90)	80 (80–90)	80 (80–85)
hsCRP [mg/l]	1,94 (0,91–2,23)*	1,98 (0,93–3,81)	3,68 (1,86–5,20)*	2,84 (1,66–4,06)
WBC [10 ⁹ /l]	6,23 (5,39–7,90)	6,32 (5,74–6,94)	6,48 (5,47–7,10)	7,14 (5,98–7,60)
G-0' [mmol/l]	5,03 (4,89–5,25)*	5,15 (4,88–5,46)	5,38 (5,12–5,49)	5,33 (5,20–5,56)*
G-120' [mmol/l]	5,98 (5,64–6,82)	6,11 (5,50–6,79)	6,22 (5,63–7,19)	6,15 (5,72–6,86)
Ins-0' [mU/l]	19,9 (16,2–24,0)	20,1 (16,8–26,2)	16,2 (13,5–19,8)*	24,2 (20,3–32,2)*
HOMA-IR [mU·mmol ⁻¹ ·l ²]	4,25 (3,50–5,58)	4,72 (3,54–6,28)	3,91 (2,99–4,67)*	5,86 (4,70–7,04)*
T-C [mmol/l]	4,98 (4,17–5,47)	5,05 (4,51–5,90)	5,02 (4,40–5,94)	5,09 (4,21–5,96)
TG [mmol/l]	1,56 (1,10–1,86)	1,31 (0,97–1,88)	1,83 (0,96–2,07)	1,45 (1,06–2,29)
HDL-C [mmol/l]	1,32 (1,16–1,55)*, **	1,18 (1,03–1,39)	1,07 (0,86–1,24)*	1,04 (0,88–1,15)**
LDL-C [mmol/l]	2,78 (2,23–3,26)	2,92 (2,42–3,88)	3,30 (2,75–3,90)	3,16 (2,31–3,99)

Objaśnienia: BMI – wskaźnik masy ciała (ang. *body mass index*); ESS – skala senności Epworth; AHI – indeks bezdechów i spłyceń oddychania (ang. *apnoea-hypopnoe index*) – zróżnicowanie wynikające z metodyki badania; SBP – ciśnienie krwi skurczowe; DBP – ciśnienie krwi rozkurczowe; hsCRP – stężenie białka C-reaktywnego wysokiej czułości w surowicy; WBC – liczba leukocytów we krwi; G-0' i G-120' – glikemia w 0' i 120 min. OGTT (ang. *oral glucose tolerance test*); HOMA-IR ang. *homeostasis model assessment of insulin resistance* – wskaźnik insulinooporności; stężenia w surowicy krwi: T-C – stężenie cholesterolu całkowitego; TG – triglicerydów ; HDL-C – cholesterolu HDL, LDL-C – cholesterolu LDL. Zaznaczono istotne statystycznie różnice przy $p < 0,05$: *, **.

Tabela 4.2. Charakterystyka zapisów parametrów snu w oparciu o badanie polisomnograficzne (EMBLA S4000) w badanych grupach oraz ich porównanie. Wyniki przedstawiono jako medianę oraz zakres międzykwartyłowy. Grupy: P – porównawcza (n = 24); OBS-1 (AHI – 5–15) (n = 24); OBS-2 (AHI – 16–30) (n = 24); OBS-3 (AHI – > 30) (n = 28)

	P n = 24	OBS-2 n = 24	OBS-2 n = 24	OBS-3 n = 28
AHI	2,3 (1,7–3,5)	8,0 (6,9–11,7)	21,2 (18,0–25,3)	51,1 (37,3–64,8)
całkowity czas snu [min]	263 (222–375)	311 (264–327)	249 (174–307)	279 (229–350)
% czasu snu/czas badania	67,6 (52,6–75,8)	64,1 (59,3–78,2)	57,4 (40,5–68,7)	65,6 (57,9–81,1)
całkowity czas czuwania [min]	138 (76–192)	163 (92–202)	198 (141–240)	132 (75–198)
% czasu czuwania/ czas badania	32,4 (24,2–47,4)	35,9 (21,9–40,7)	42,6 (31,3–59,4)	34,4 (18,9–42,1)
NREM 1 [%]	12,2 (2,8–18,9)	9,8 (5,1–14,8)	17,2 (10,4–22,4)	7,6 (3,1–17,1)
NREM 2 [%]	52,0 (36,9–58,0)	49,5 (25,9–57,5)	49,9 (39,0–62,0)	42,7 (28,2–55,1)
NREM 3 [%]	16,9 (10,6–25,7)	21,8 (10,2–40,3)	15,9 (9,7–23,4)	32,2 (15,2–57,2)
REM [%]	14,3 (5,6–20,6)	11,7 (4,2–19,3)	11,9 (5,1–20,4)	11,3 (3,6–15,0)
średnia S_aO_2	94,4 (93,5–96,0)*	93,7 (92,3–95,0)	93,4 (91,2–94,5)	92,7 (90,5–93,9)*
minimalne S_aO_2	88,0 (85,0–90,0)*,**	85,0 (84,0–89,5)***	82,0 (77,0–85,0)*	79,5 (67,0–84,5)**,**
% czasu $S_aO_2 < 90\%$	0 (0–2,5)*,**	3,0 (0–2,9)***	4,3 (0,4–6,1)*	13,3 (3,0–41,0)**,**

Objaśnienia: AHI ang. *apnoea-hypopnoe index* – indeks bezdechów i splyceń oddychania – zróżnicowanie wynikające z metodyki badania; NREM 1, NREM 2, NREM 3, REM – odsetek poszczególnych stadiów w strukturze snu podczas badania; średnia S_aO_2 – średnie wysycenie hemoglobiny tlenem podczas badania; minimalne S_aO_2 – minimalne wysycenie hemoglobiny tlenem podczas badania; % czasu $S_aO_2 < 90\%$ – odsetek czasu snu z wysyceniem hemoglobiny tlenem poniżej 90%. Zaznaczono istotne statystycznie różnice przy $p < 0,05$: *, **, ***.

aktywności (snu i czuwania) nie różnił się. Między grupami nie stwierdzono ponadto różnic związanych z odsetkiem poszczególnych faz i stadiów snu (NREM1, NREM2, NREM3, REM).

Mimo że do badania kwalifikowano tylko osoby z prawidłową, tj. w zakresie wartości referencyjnych, liczbą leukocytów (WBC) w morfologii krwi obwodowej i stężeniem hsCRP < 9mg/l, badane grupy różniły się stężeniem białka C-reaktywnego ($p = 0,0402$) z najwyższą medianą hsCRP w grupie OBS-2 w odniesieniu do grupy porównawczej (test Dunna: 0,0203).

W zakresie parametrów gospodarki lipidowej nie obserwowano różnic w stężeniach T-C, TG, LDL-C. Badane grupy różniły się stężeniem HDL-C ($p = 0,0033$), które obniżało się systematycznie począwszy od grupy P przez OBS-1, OBS-2 do OBS-3 C z istotnymi statystycznie różnicami w teście Dunna: między OBS-2 a grupą porównawczą ($p = 0,020$) oraz OBS-3 a grupą porównawczą ($p = 0,0015$).

W zakresie parametrów gospodarki węglowodanowej zaobserwowano zwiększanie się glikemii na czczo ($p = 0,0154$), począwszy od grupy porównawczej do OBS-3, z istotną statystycznie różnicą pomiędzy grupą P a OBS-3 (test Dunna: $p = 0,0082$). Osoby badane nie różniły się stężeniami glikemii w 120 min. Zaobserwowano różnice w stężeniu insuliny na czczo ($p = 0,0033$), najwyższe wartości w grupie OBS-3 w porównaniu z OBS-2 (w teście Dunna: $p = 0,0004$). Podobną tendencję zaobserwowano w przypadku HOMA-IR – najwyższe wartości stwierdzono w grupie OBS-3 w porównaniu z grupą OBS-2 (w teście Dunna: $p = 0,0005$).

Z założeń pracy wynikają różnice w wartościach parametrów polisomnograficznych oraz skali senności Epworth. AHI było podstawą podziału na grupy badane.

Badane grupy różniły się średnią S_aO_2 wykazując tendencję do obniżania się ($p = 0,0047$) z najniższym w OBS-3 w porównaniu z grupą P (test Dunna – $p = 0,0036$).

Badane grupy różniły się minimalną S_aO_2 ($p < 0,0001$) z progresywnym obniżaniem od grupy P ku grupie OBS-3: z istotnymi statystycznie różnicami w teście Dunna obserwowanymi dla OBS-2 ($p = 0,0085$), OBS-3 ($p < 0,0001$) w porównaniu z grupą P oraz OBS-3 w porównaniu z OBS-1 ($p = 0,0004$).

Badane grupy różniły się odsetkiem czasu $SpO_2 < 90\%$ ($p < 0,0001$) z progresywnym narastaniem od grupy P ku grupie OBS-3: z istotnymi statystycznie różnicami w teście Dunna obserwowanymi dla OBS-2 ($p = 0,0069$), OBS-3 ($p < 0,0001$) w porównaniu z grupą P oraz OBS-3 w porównaniu z OBS-1 ($p < 0,0001$).

4.2. Porównania między badanymi grupami

Porównanie wyników badań stężeń selektyn, ekspresji genu kodującego L-selektynę oraz wykładników stresu oksydacyjnego zawarte zostało w tabeli 4.3.

Tabela 4.3. Charakterystyka wyników badań selektyn i parametrów stresu oksydacyjnego w badanych grupach oraz ich porównanie między grupami. Wyniki przedstawiono jako medianę oraz zakres międzykwartylowy. Grupy: P – porównawcza (n = 24); OBS 1 (AHI – 5–15) (n = 24); OBS 2 (AHI (16–30) (n = 24); OBS3 (AHI – > 30) (n = 28)

	P n = 24	OBS-1 n = 24	OBS-2 n = 24	OBS-3 n = 28
L-sel [ng/ml]	1458,5 (1128,8–1674,6) *, ***	1773,2 (1446,5–2231,4) **	2233,0 (1848,5–2671,6) ***	2872,7 (2390,3–3478,0) *, **
x L-sel / 10 ²	3,60 (1,80–8,17) *, ***, ****	21,72 (6,03–38,50) **, ****	44,48 (21,64–72,15) ***	77,14 (28,70–141,00) *, **
E-sel [ng/ml]	8,31 (5,27–15,82) *, ****, *****	21,26 (15,60–24,53) **, *****	22,60 (16,67–26,66) ***, ****	33,55 (26,38–40,74) *, **, ***
P-sel [ng/ml]	43,55 (33,61–49,92) *, **	51,46 (39,69–73,78)	59,88 (42,90–78,81) **	72,18 (44,45–83,79) *
TBARS [μmol/l]	4,34 (2,42–5,54) *, **	5,18 (3,86–6,52) ***, ****	7,41 (6,23–8,36) *, ****	9,18 (7,49–11,93) *, **
TAS [mmol/l]	1,46 (1,36–1,55) *, **, ***	1,26 (1,20–1,42) ***, ****	1,23 (1,14–1,39) **	1,14 (1,01–1,27) *, ****
AHI	2,3 (1,7–3,5)	8,0 (6,9–11,7)	21,2 (18,0–25,3)	51,1 (37,3–64,8)

Objaśnienia: L-sel – stężenie selektyny L w surowicy; x L-sel – ekspresja genu dla L-selektyny; P-sel – stężenie P-selektyny; E-sel – stężenie E-selektyny; TBARS – ang. *thiobarbituric reacting substances* – stężenie substancji reagujących z kwasem tiobarbituranowym; TAS – ang. *total antioxidant status* – całkowity stan antyoksydacyjny osocza; AHI ang. *apnoea-hypopnoe index* – indeks bezdechów i słyceń oddychania – różnicowanie wynikające z metodyki badania. Zaznaczono istotne statystycznie różnice przy $p < 0,05$: *, **, ***, ****, *****.

4.2.1. Wyniki badań stężeń selektyn

Porównania dotyczące stężeń selektyn między grupami przedstawiono na rycinach 4.1, 4.2, 4.3.

Badanie związane z określeniem stężenia L-selektyny w surowicy potwierdziło wzrastanie stężeń w poszczególnych grupach ($p < 0,0001$). Obserwowano statystycznie istotną różnicę między grupami OBS-3 oraz OBS-2 w odniesieniu do grupy porównawczej: dla OBS-3 – $p < 0,0001$, dla OBS-2 – $p = 0,0009$. W odniesieniu OBS-3 w stosunku do OBS-1 p wynosiło $< 0,0001$.

Badanie związane z określeniem stężenia E-selektyny w surowicy potwierdziło wzrastanie stężeń w poszczególnych grupach ($p < 0,0001$). Obserwowano statystycznie istotną różnicę między grupami OBS-3, OBS-2 oraz OBS-1 w odniesieniu do grupy porównawczej: dla OBS-3 – $p < 0,0001$, dla OBS-2 – $p = 0,0001$ dla OBS-1 – $p = 0,0035$. W odniesieniu OBS-3 do OBS-2 p wynosiło $< 0,0141$, a w odniesieniu do OBS-1 p wynosiło $0,0016$.

Badanie związane z oznaczeniem stężenia P-selektyny w surowicy potwierdziło wzrastanie stężeń w poszczególnych grupach ($p < 0,0014$). Obserwowano statystycznie istotną różnicę między grupami OBS-3 i OBS-2 w porównaniu z grupą porównawczą: dla OBS-3 – $p = 0,0007$, dla OBS-2 – p wynosiło $0,0348$.

4.2.2. Wyniki badań oceny ekspresji genu kodującego L-selektynę w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (PBMC)

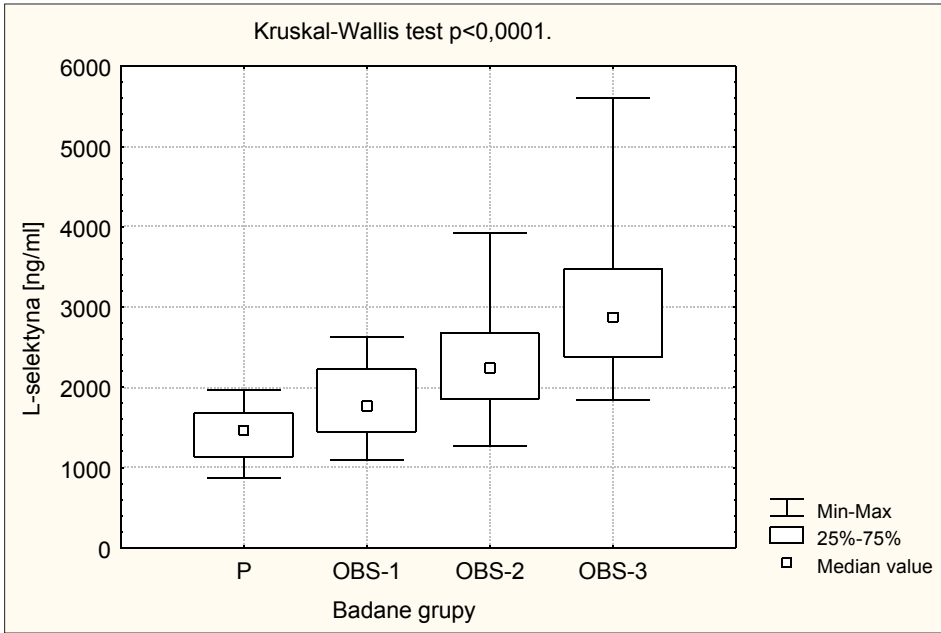
Badanie związane z określeniem ekspresji genu dla L-selektyny potwierdziło wzrastanie ekspresji w poszczególnych grupach ($p < 0,0001$) – przedstawiono na rycinie 4.4.

Obserwowano statystycznie istotną różnicę między grupami OBS-3, OBS-2 oraz OBS-1 w odniesieniu do grupy porównawczej: dla OBS-3 – $p < 0,0001$, dla OBS-2 – $p < 0,0001$, dla OBS-1 – $p = 0,0095$. W odniesieniu OBS-3 do OBS-1 p wynosiło $0,0103$.

4.2.3. Wyniki badań parametrów stresu oksydacyjnego

Porównania w tym zakresie przedstawiono na rycinach 4.5. oraz 4.6.

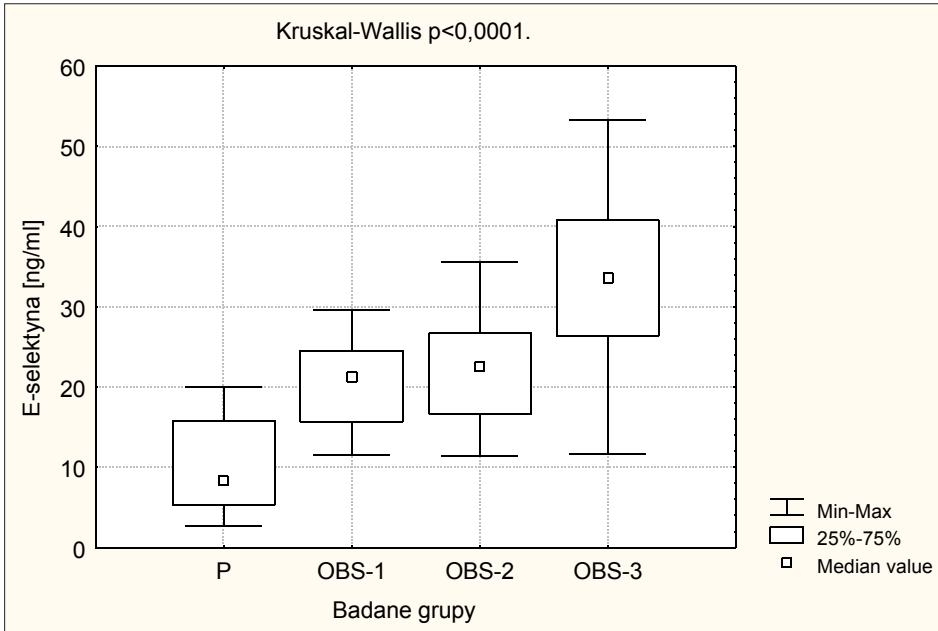
Badanie związane z określeniem całkowitego stanu antyoksydacyjnego (TAS) osocza ukazało zmniejszanie się stężeń w poszczególnych grupach ($p < 0,0001$). Obserwowano statystycznie istotną różnicę między grupami OBS-3, OBS-2 oraz OBS-1 w odniesieniu do grupy porównawczej: dla OBS-3 – $p < 0,0001$, dla OBS-2 – $p = 0,0015$, dla OBS-1 – $p = 0,0152$. W odniesieniu OBS-3 do OBS-1 p wynosiło $0,0179$.



L-sel:
Kruskal-Wallis test, $p = 0,0000$. Dunn test, $p = :$

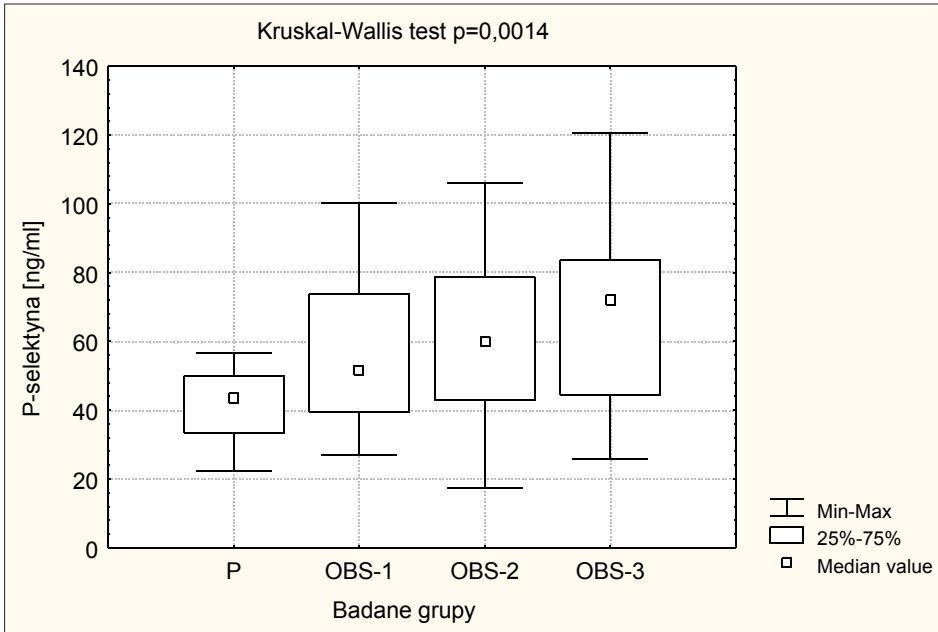
	P	OBS-1	OBS-2	OBS-3
P		0,1539	0,0000	0,0000
OBS-1	0,1539		0,0593	0,0000
OBS-2	0,0000	0,0593		0,2493
OBS-3	0,0000	0,0000	0,2493	

Rycina 4.1. Porównanie stężeń L-selektyny w surowicy między badanymi grupami P, OBS-1, OBS-2, OBS-3: testem Kruskala-Wallis (rycina) i *post hoc* testem Dunna (Tabela). Liczebność grup: P (n = 24), OBS-1 (n = 24), OBS-2 (n = 24), OBS-3 (n = 28).



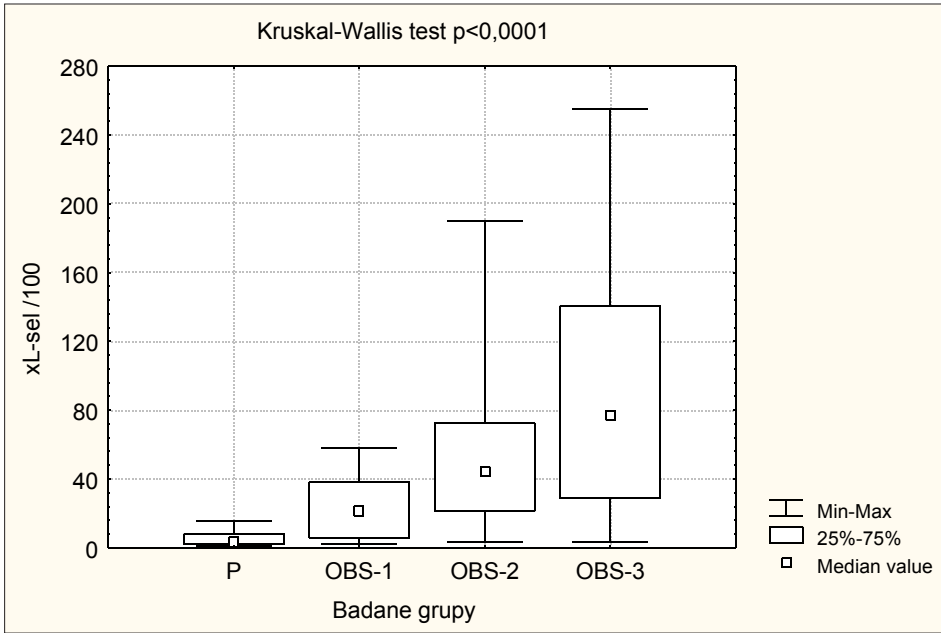
E-selektyna: Kruskal-Wallis test, $p = 0,0000$. Dunn test, $p = :$				
	P	OBS-1	OBS-2	OBS-3
P		0,0035	0,0003	0,0000
OBS-1	0,0035		1,0000	0,0016
OBS-2	0,0003	1,0000		0,0141
OBS-3	0,0000	0,0016	0,0141	

Rycina 4.2. Porównanie stężeń E-selektyny w surowicy między badanymi grupami P, OBS-1, OBS-2, OBS-3: testem Kruskala-Wallis (rycina) i *post hoc* testem Dunna (Tabela). Liczebność grup: P (n = 24), OBS-1 (n = 24), OBS-2 (n = 24), OBS-3 (n = 28).



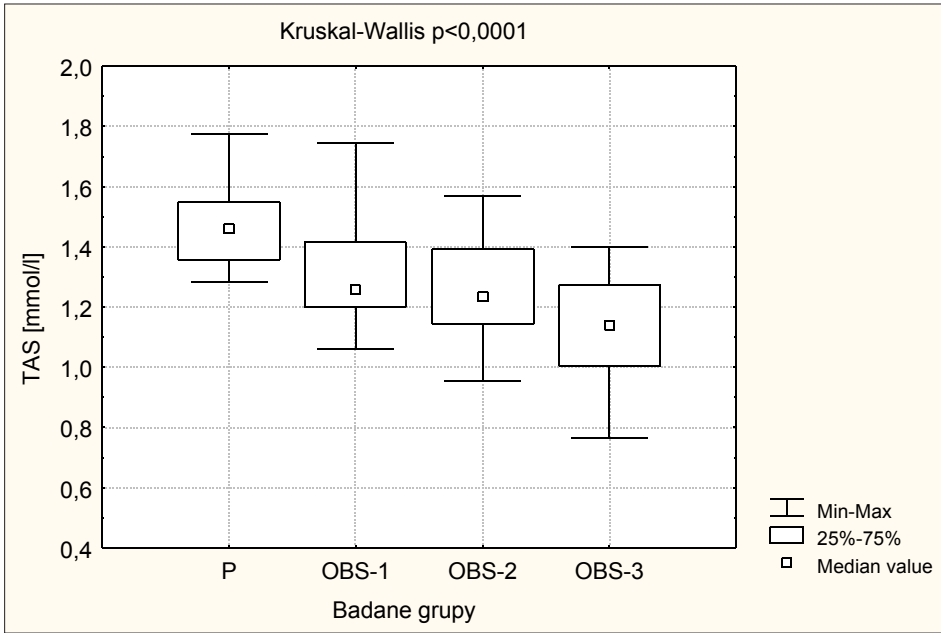
P-selektyna: Kruskal-Wallis test, $p = 0,0014$. Dunn test, $p =$:				
	P	OBS-1	OBS-2	OBS-3
P		0,1932	0,0348	0,0007
OBS-1	0,1932		1,0000	0,6505
OBS-2	0,0348	1,0000		1,0000
OBS-3	0,0007	0,6505	1,0000	

Rycina 4.3. Porównanie stężeń P-selektyny w surowicy między badanymi grupami P, OBS-1, OBS-2, OBS-3: testem Kruskala-Wallis (rycina) i *post hoc* testem Dunna (Tabela). Liczebność grup: P (n = 24), OBS-1 (n = 24), OBS-2 (n = 24), OBS-3 (n = 28).



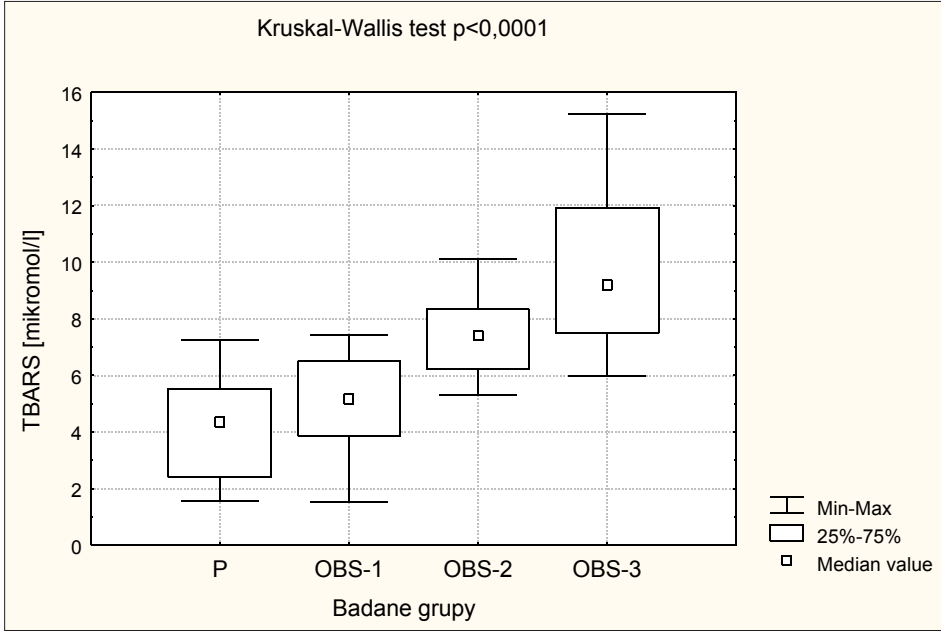
xL-sel: Kruskal-Wallis test, $p < 0,0001$. Dunn test, $p = :$				
	P	OBS-1	OBS-2	OBS-3
P		0,0095	0,0000	0,0000
OBS-1	0,0095		0,2081	0,0103
OBS-2	0,0000	0,2081		1,0000
OBS-3	0,0000	0,0103	1,0000	

Rycina 4.4. Porównanie ekspresji genu L-selektyny (xL-sel) między badanymi grupami P, OBS-1, OBS-2, OBS-3: testem Kruskala-Wallisa (rycina) i *post hoc* testem Dunna (Tabela). Liczebność grup: P (n = 24), OBS-1 (n = 24), OBS-2 (n = 24), OBS-3 (n = 28).



TAS:				
Kruskal-Wallis test, $p < 0,0001$. Dunn test $p =$:				
	P	OBS-1	OBS-2	OBS-3
P		0,0152	0,0015	0,0000
OBS-1	0,0152		1,0000	0,0179
OBS-2	0,0015	1,0000		0,1254
OBS-3	0,0000	0,0179	0,1254	

Rycina 4.5. Porównanie stężeń TAS w osoczu między badanymi grupami P, OBS-1, OBS-2, OBS-3: testem Kruskala-Wallisa (rycina) i *post hoc* testem Dunna (Tabela). Liczebność grup: P (n = 24), OBS-1 (n = 24), OBS-2 (n = 24), OBS-3 (n = 28).



TBARS: Kruskal-Wallis test, $p < 0,0001$. Dunn test, $p = :$				
	P	OBS-1	OBS-2	OBS-3
P		1,0000	0,0000	0,0000
OBS-1	1,0000		0,0016	0,0000
OBS-2	0,0000	0,0016		0,3722
OBS-3	0,0000	0,0000	0,3722	

Rycina 4.6. Porównanie stężeń TBARS w osoczu między badanymi grupami P, OBS-1, OBS-2, OBS-3: testem Kruskala-Wallisa (rycina) i *post hoc* testem Dunna (Tabela). Liczebność grup: P (n = 24), OBS-1 (n = 24), OBS-2 (n = 24), OBS-3 (n = 28).

Badanie związane z określeniem stężenia produktów peroksydacji lipidów w osoczu (TBARS) potwierdziło wzrastanie stężeń w poszczególnych grupach ($p < 0,0001$). Obserwowano statystycznie istotną różnicę między grupami OBS-3 oraz OBS-2 w odniesieniu do grupy porównawczej: dla OBS-3 – $p < 0,0001$, dla OBS-2 – $p < 0,0001$. W odniesieniu OBS-3 do OBS-1 p wynosiło $<0,0001$, a OBS-2 do OBS-1 p wynosiło $0,0016$.

4.3. Korelacje w badanych grupach oraz analiza regresji wielokrotnej

Przeprowadzono korelacje stężeń selektyn E, P, L, ekspresji genu L-selektyny oraz parametrów stresu oksydacyjnego z wszystkimi przedstawianymi parametrami antropometrycznymi, metabolicznymi oraz uzyskanymi w trakcie badania polisomnograficznego, w badanej populacji 76 osób z obturacyjnym bezdechem sennym (OBS-1 + OBS-2 + OBS-3) oraz w każdej badanej grupie oddzielnie. Istotne statystycznie wyniki analizy zaprezentowano w tabelach 4.4–4.8.

Ponadto obliczono wzajemne korelacje kluczowych parametrów (stężenia selektyn, parametry stresu oksydacyjnego oraz ekspresja genu L-selektyny) w badanej populacji 76 osób z OBS (OBS-1 + OBS-2 + OBS-3) oraz w każdej badanej grupie oddzielnie. Wyniki przedstawiono w tabeli 4.9.

Zwraca uwagę ujemna korelacja TAS i P-selektyny w grupie OBS-1 oraz dodatnia korelacja TBARS z L-selektyną w grupie OBS-2. Jedynie grupa porównawcza oraz grupa OBS-1 prezentowały dodatnią korelację między stężeniem i ekspresją L-selektyny. W grupie OBS-3 zaobserwowano kilka zależności dla selektyn E, P, L: odwrotną korelację TAS z L-selektyną, i między TAS a TBARS oraz dodatnie korelacje pomiędzy produktami peroksydacji lipidów a zarówno E, jak i P-selektyną. Z tych korelacji na szczególną uwagę zasługuje silny związek TBARS i E-selektyny ($R = 0,83$).

Przeprowadzono analizę regresji wielokrotnej dla sprawdzenia, czy istnieją zmienne korelujące z poszczególnymi selektynami oraz markerami stresu oksydacyjnego, niezależnie od pozostałych zmiennych. Współczynnik β określa siłę i kierunek zależności, R^2 wyjaśnia odsetek zmienności, a R określa wielkość zależności liniowej.

Tabela 4.4. Wybrane korelacje pomiędzy stężeniem E-selektyny w surowicy a parametrami snu, antropometrycznymi i laboratoryjnymi w badanych grupach: P, OBS-1, OBS-2, OBS-3 i w całej populacji OBS (OBS 1+2+3). Zaznaczono istotne statystycznie korelacje podając współczynnik korelacji Spearmana R oraz wartość p jako R/p ; ns – nieistotne statystycznie

	P	OBS-1	OBS-2	OBS-3	OBS (1+2+3)
E-sel & AHI	ns	ns	ns	0,91 / < 0,0001	0,64 / < 0,0001
E-sel & ESS	ns	ns	ns	ns	0,33 / 0,0068
E-sel & ODI	ns	ns	0,49 / 0,0140	0,79 / < 0,0001	0,60 / < 0,0001
E-sel & śr. S_aO_2	ns	ns	ns	-0,43 / 0,0233	ns
E-sel & min. S_aO_2	ns	ns	ns	-0,46 / 0,0134	ns
E-sel & % < 90% S_aO_2	ns	ns	ns	0,56 / 0,0020	0,37 / 0,0020
E-sel & BMI	ns	ns	ns	ns	ns
E-sel & obwód szyi	ns	ns	ns	0,48 / 0,0094	0,39 / 0,0011
E-sel & G-0'	0,42 / 0,0449	ns	ns	ns	ns
E-sel & G-120'	ns	0,45 / 0,0284	0,71 / 0,0001	ns	0,35 / 0,0029

Objaśnienia: śr. S_aO_2 – średnie wysycenie hemoglobiny tlenem podczas badania; min. S_aO_2 – minimalne wysycenie hemoglobiny tlenem podczas badania; % $S_aO_2 < 90\%$ – odsetek czasu snu z wysyceniem hemoglobiny tlenem poniżej 90%; BMI – wskaźnik masy ciała (ang. *body mass index*); ESS – skala senności Epworth; AHI – indeks bezdechów i spłyceń oddychania (ang. *apnoea-hypopnoe index*); ODI (ang. *oxygen desaturation index*) – indeks desaturacji; G-0' i G-120' – glikemia w 0' i 120 min. OGTT (ang. *oral glucose tolerance test*).

Tabela 4.5. Wybrane korelacje pomiędzy stężeniem P-selektyny w surowicy a parametrami snu, antropometrycznymi i laboratoryjnymi w grupach: P, OBS-1, OBS-2, OBS-3 i w całej populacji OBS (OBS 1+2+3). Zaznaczono istotne statystycznie korelacje podając współczynnik korelacji Spearmana R oraz wartość p jako R/p ; ns – nieistotne statystycznie

	P	OBS-1	OBS-2	OBS-3	OBS (1+2+3)
P-sel & AHI	ns	0,72 / < 0,0001	ns	0,50 / 0,0067	0,38 / 0,0013
P-sel & BMI	ns	ns	ns	ns	ns
P-sel & obw. szyi	ns	ns	ns	ns	0,31 / 0,0101
P-sel & obw. talii	0,42 / 0,0421	ns	ns	ns	ns
P-sel & HDL-C	-0,43 / 0,0378	ns	ns	ns	ns

Objaśnienia: BMI – wskaźnik masy ciała (ang. *body mass index*); AHI – indeks bezdechów i splotów oddychania (ang. *apnoea-hypopnoe index*); HDL- C – cholesterol HDL.

Tabela 4.6. Wybrane korelacje pomiędzy stężeniem L-selektyny w surowicy a parametrami badanymi snu, antropometrycznymi i laboratoryjnymi w badanych grupach: P, OBS-1, OBS-2, OBS-3 i w całej populacji OBS (OBS 1+2+3). Zaznaczono istotne statystycznie korelacje podając współczynnik korelacji Spearmana R oraz wartość p jako R/p ; ns – nieistotne statystycznie

	P	OBS-1	OBS-2	OBS-3	OBS (1+2+3)
L-sel & AHI	ns	ns	ns	ns	0,61 / < 0,0001
L-sel & ODI	ns	ns	ns	ns	0,56 / < 0,0001
L-sel & śr. S_aO_2	ns	ns	-0,61 / 0,0156	ns	-0,38 / 0,0016
L-sel & min. S_aO_2	ns	ns	ns	ns	-0,32 / 0,0077
L-sel & < 90% S_aO_2	ns	ns	0,62 / 0,0168	ns	0,44 / 0,0003
L-sel & BMI	ns	ns	0,50 / 0,0122	ns	0,41 / 0,0003
L-sel & obw. szyi	ns	ns	ns	ns	0,36 / 0,0025
L-sel & obw. talii	ns	ns	0,57 / 0,0268	ns	0,45 / 0,0002
L-sel & WBC	0,63 / 0,0039	0,54 / 0,0084	ns	ns	0,37 / 0,0023
L-sel & HDL-C	ns	ns	ns	ns	-0,32 / 0,0064

Objaśnienia: śr. S_aO_2 – średnie wysycenie hemoglobiny tlenem podczas badania; min. S_aO_2 – minimalne wysycenie hemoglobiny tlenem podczas badania; % S_aO_2 < 90 % – odsetek czasu snu z wysyceniem hemoglobiny tlenem poniżej 90%; BMI – wskaźnik masy ciała (ang. *body mass index*); AHI – indeks bezdechów i splotów oddychania (ang. *apnoea-hypopnoe index*); ODI (ang. *oxygen desaturation index*) – indeks desaturacji; HDL- C – cholesterol HDL.

Tabela 4.7. Wybrane korelacje pomiędzy ekspresją genu L-selektyny w PBMN a parametrami badanymi snu, antropometrycznymi i laboratoryjnymi w badanych grupach: P, OBS-1, OBS-2, OBS-3 i w całej populacji OBS (OBS 1+2+3). Zaznaczono istotne statystycznie korelacje podając współczynnik korelacji Spearmana R oraz wartość p jako R/p ; ns – nieistotne statystycznie

	P	OBS-1	OBS-2	OBS-3	OBS (1+2+3)
xL-sel & AHI	ns	ns	ns	ns	0,40 / 0,0008
xL-sel & ODI	ns	ns	ns	ns	0,39 / 0,0006
xL-sel & BMI	ns	ns	ns	ns	ns
xL-sel & WBC	0,70 / 0,0007	ns	ns	ns	ns
xL-sel & T-C	ns	0,42 / 0,0377	ns	ns	ns

Objaśnienia: BMI – wskaźnik masy ciała (ang. *body mass index*); AHI – indeks bezdechów i słyceń oddychania (ang. *apnoea-hypopnoe index*); ODI (ang. *oxygen desaturation index*) – indeks desaturacji; WBC – liczba leukocytów we krwi; T- C – cholesterol całkowity.

Tabela 4.8. Wybrane korelacje pomiędzy markerami stresu oksydacyjnego a parametrami snu, antropometrycznymi i laboratoryjnymi w badanych grupach: P, OBS-1, OBS-2, OBS-3 oraz w całej populacji OBS (OBS 1+2+3). Zaznaczono istotne statystycznie korelacje podając współczynnik korelacji Spearmana R oraz wartość p jako R/p ; ns – nieistotne statystycznie

	P	OBS-1	OBS-2	OBS-3	OBS (1+2+3)
TAS & AHI	ns	ns	ns	ns	-0,48 / < 0,0001
TAS & ODI	ns	ns	ns	ns	-0,36 / 0,0015
TAS & ESS	ns	-0,60 / 0,0020	ns	ns	-0,32 / 0,0078
TAS & min. S_aO_2	ns	ns	0,59 / 0,0193	ns	ns
TAS & BMI	ns	ns	ns	ns	ns
TAS & obw. szyi	ns	ns	ns	-0,38 / 0,0438	-0,36 / 0,0024
TAS & HDL-C	ns	-0,52 / 0,0090	ns	ns	ns
TBARS & AHI	ns	ns	0,81 / 0,0003	0,96 / < 0,0001	0,82 / < 0,0001
TBARS & ESS	ns	ns	ns	ns	0,36 / 0,0024
TBARS & ODI	ns	ns	ns	0,67 / < 0,0001	0,71 / < 0,0001
TBARS & śr. S_aO_2	ns	ns	ns	ns	-0,36 / 0,0030
TBARS & min. S_aO_2	ns	ns	ns	ns	-0,42 / 0,0004
TBARS & % < 90% S_aO_2	ns	ns	ns	ns	0,47 / 0,0001
TBARS & %REM	ns	ns	ns	-0,45 / 0,0236	ns
TBARS & BMI	0,91 / < 0,0001	0,85 / < 0,0001	ns	ns	0,41 / 0,0003
TBARS & obw. szyi	0,41 / 0,0480	0,43 / 0,0367	ns	0,45 / 0,0155	0,52 / < 0,0001
TBARS & obw. talii	0,65 / 0,0006	0,56 / 0,0042	ns	ns	0,40 / 0,0007
TBARS & CRP	0,54 / 0,0254	ns	ns	ns	ns
TBARS & G-0'	0,57 / 0,0034	0,43 / 0,0378	0,41 / 0,0488	ns	ns
TBARS & HOMA-IR	0,53 / 0,0084	ns	ns	ns	ns

Objaśnienia: śr. S_aO_2 – średnie wysycenie hemoglobiny tlenem podczas badania; min. S_aO_2 – minimalne wysycenie hemoglobiny tlenem podczas badania; % S_aO_2 < 90% – odsetek czasu snu z wysyceniem hemoglobiny tlenem poniżej 90%; BMI – wskaźnik masy ciała (ang. *body mass index*); ESS – skala senności Epworth; AHI – indeks bezdechów i słyceń oddychania (ang. *apnoea-hypopnoe index*); ODI (ang. *oxygen desaturation index*) – indeks desaturacji; G-0' – glikemia w 0'; HOMA-IR ang. homeostasis model assessment of insulin resistance – wskaźnik insulinooporności; HDL- C – cholesterol HDL, CRP – stężenie białka C-reaktywnego wysokiej czułości (hsCRP) w surowicy.

Tabela 4.9. Korelacje wzajemne kluczowych parametrów w badanych grupach: P, OBS-1, OBS-2, OBS-3 i w całej populacji OBS (OBS 1+2+3). Zaznaczono istotne statystycznie korelacje podając współczynnik korelacji Spearmana R oraz wartość p jako R/p ; ns – nieistotne statystycznie

	P	OBS-1	OBS-2	OBS-3	OBS (1+2+3)
L-sel & E-sel	ns	ns	ns	ns	0,43 / 0,0001
L-sel & P-sel	ns	ns	ns	ns	ns
L-sel & xL-sel	0,69 / 0,0002	0,52 / 0,0084	ns	ns	0,54 / < 0,0001
xL-sel & E-sel	ns	ns	ns	ns	ns
xL-sel & P-sel	ns	ns	ns	ns	ns
E-sel & P-sel	ns	ns	ns	0,43 / 0,0206	ns
TAS & L-sel	ns	ns	ns	-0,49 / 0,0082	-0,42 / 0,0002
TAS & E-sel	ns	ns	ns	ns	ns
TAS & P-sel	ns	-0,44 / 0,0305	ns	ns	ns
TAS & xL-sel	ns	ns	ns	ns	ns
TAS & TBARS	ns	ns	ns	-0,45 / 0,0174	-0,39 / 0,0004
TBARS & L-sel	ns	ns	0,51 / 0,0106	ns	0,58 / < 0,0001
TBARS & E-sel	ns	ns	ns	0,83 / < 0,0001	0,59 / < 0,0001
TBARS & P-sel	ns	ns	ns	0,44 / 0,0181	0,32 / 0,0047
TBARS & xL-sel	ns	ns	ns	ns	0,33 / 0,0039

W odniesieniu do L-selektyny: w grupie OBS (1+2+3) współczynnik AHI okazał się znaczącym czynnikiem dodatnio korelującym, niezależnie od pozostałych (korelacje zaznaczone w tabeli 4.6), ze stężeniem L-selektyny (β 0,656; R² 0,44; R 0,66). W dużym stopniu liniowa zmiana AHI wyjaśniła blisko 44% zmienność stężenia L-sel w badanej grupie osób. Pozostałe 56% zmienności L-sel mogło być spowodowane innymi czynnikami lub nieliniowymi zależnościami.

W odniesieniu do E-selektyny: w grupie OBS-2 spośród parametrów korelujących z E-sel. analiza regresji wskazała wartość G-120' korelującą niezależnie od pozostałych czynników (β 0,51; R² 50; R 0,52). Zmiana glikemii w 120 minucie testu doustnego obciążenia glukozą może wyjaśnić w 50% zmienność stężenia E-selektyny w funkcji liniowej.

W grupie OBS-3 parametry AHI (β 0,787; R² 0,866; R 0,93) i średnia nocna saturacja (β 0,499; R² 0,866; R 0,93) korelowały dodatnio ze stężeniem E-selektyny niezależnie od pozostałych (Tabela. 4.4.) Liniowa zmiana wartości AHI i średnia saturacja wyjaśniły w 86% zmienność E-sel w badanej grupie.

W populacji OBS (1+2+3) współczynnik AHI (β 0,853; R² 0,694; R 0,83) i stężenie G-120' (β 0,203; R² 0,694; R 0,83) dodatnio korelowały z E-sel, usprawiedliwiając 69% zmienność stężenia E-selektyny.

W odniesieniu do TAS: w populacji OBS (1+2+3) współczynnik AHI (β -0,82; R² 0,363; R 0,603), niezależnie od pozostałych predyktorów (Tabela. 4.8.) korelował odwrotnie ze stężeniem TAS osocza, wyjaśniając 36% jego zmienności.

W odniesieniu do TBARS: BMI wykazało dodatnią liniową korelację, niezależną od pozostałych zmiennych, w grupie porównawczej (β 0,84; R² 0,92; R 0,969) i grupie OBS-1 (β 0,612; R² 0,58; R 0,76), usprawiedliwiając zmienność stężenia TBARS w tych grupach odpowiednio w 94% i 61%. Natomiast AHI korelowało dodatnio, liniowo ($R \geq 0,9$) z produktami peroksydacji lipidów w grupie OBS-3 (β 1,0; R² 0,919 R 0,957) oraz w całej populacji pacjentów z obturacyjnym bezdechem sennym OBS 1+2+3 (β 0,916; R² 0,811; R 0,90), a zmienność AHI w tych sytuacjach mogła wyjaśnić blisko 92% i 81% zmienności stężenia TBARS.

W przypadku stężeń P-selektyny oraz ekspresji genu L-selektyny analiza regresji wielokrotnej nie wykazała obecności czynnika predykcyjnego korelującego niezależnie od pozostałych zmiennych.

4.4. Charakterystyka pacjentów o największym stopniu nasilenia zaburzeń oddychania w czasie snu

W trakcie analizy wyników zwrócono uwagę na duży rozrzut stężeń E-selektyny, P-selektyny, TBARS oraz ekspresji genu L-selektyny w grupie OBS-3. Z uwagi na ten fakt przeprowadzono podział grupy pacjentów OBS-3 na dwie podgrupy: 3A z AHI 31–50 oraz 3B z AHI powyżej 51, każdej o liczebności 14 osób. Dokonano charakterystyki porównawczej parametrów istotnych obu podgrup analogicznie jak w przypadku podstawowych grup badanych, którą zawarto w tabelach 4.10., 4.11. oraz 4.12.

Analiza porównawcza wykazała brak różnic dla następujących parametrów: BMI, obwodu talii, ciśnienia skurczowego i rozkurczowego krwi, hsCRP, WBC, stężeń glikemii, insuliny, HOMA-IR oraz oznaczanych parametrów gospodarki lipidowej. W zakresie badań laboratoryjnych nie stwierdzono także różnic dotyczących ekspresji genu dla L-selektyny, stężeń L-selektyny w surowicy oraz TAS. Nie stwierdzono ponadto różnic w wynikach badania skali senności Epworth.

W podgrupie OBS-3B w porównaniu z OBS-3A zaobserwowano statystycznie istotny zmniejszony całkowity czas snu ($p = 0,0487$) oraz zmniejszony udział czasu snu w stosunku do czasu badania ($p = 0,0138$), zmniejszony udział snu REM w strukturze snu ($p = 0,0338$), obniżoną średnią S_aO_2 podczas snu ($p = 0,0364$) oraz udział czasu S_aO_2 poniżej 90% ($p = 0,0123$). Stwierdzono istotnie statystycznie zwiększony obwód szyi ($p = 0,0121$).

W zakresie określanych stężeń w surowicy potwierdzono – porównując podgrupę OBS-3B w stosunku do OBS-3A – zwiększone stężenia E-selektyny ($p < 0,0001$), P-selektyny ($p = 0,0169$) oraz TBARS ($p < 0,0001$).

Na rycinie 4.7. przedstawiono porównanie dotyczące stężeń E-selektyny, natomiast na rycinie 4.8. dotyczące stężeń TBARS.

Tabela 4.10. Porównanie podgrup pacjentów o największym stopniu nasilenia zaburzeń oddychania w czasie snu testem U Mann-Whitney. Wskazano różnice istotne statystycznie pomiędzy OBS-3A i OBS-3B. Wyniki przedstawiono jako medianę oraz zakres międzykwartylowy. Grupy: OBS-3 (AHI >30) (n = 28); OBS-3A (AHI 31–50) (n = 14); OBS-3B (AHI > 50) (n = 14)

	OBS-3 n = 28	OBS-3A n = 14	OBS-3B n = 14	test U Mann- Whitney
Wiek [lata]	54,5 (41,5–60,5)	57,5 (53,0–62,0)	47,5 (40,0–56,0)	–
BMI [kg/m ²]	31,1 (28,1–34,4)	29,4 (27,7–33,3)	31,6 (28,4–35,9)	–
Obw. szyi [cm]	43 (42–45)	43 (41–43)	44 (44–46)	p = 0,0121
Obw. talii [cm]	108 (100 – 113)	106 (100–112)	110 (100–118)	–
ESS	11 (7–14)	9 (7–11)	12 (11–16)	–
AHI	51,1 (37,3–64,8)	37,3 (35,8–41,0)	64,8 (60,3–68,5)	z założenia p < 0,0001
SBP [mmHg]	138 (130–148)	136 (120–145)	138 (130–148)	–
DBP [mmHg]	80 (80–85)	80 (80–80)	80 (80–90)	–
hsCRP [mg/l]	2,84 (1,66–4,06)	3,21 (1,51–3,93)	2,66 (1,72–6,95)	–
WBC [10 ⁹ /l]	7,14 (5,98–7,60)	7,25 (6,34–7,58)	6,67 (5,72–7,99)	–
G-0' [mmol/l]	5,33 (5,20–5,56)	5,45 (5,14–5,56)	5,31 (5,24–5,57)	–
G-120' [mmol/l]	6,15 (5,72–6,86)	6,48 (5,91–6,87)	6,52 (5,70–6,88)	–
Ins-0' [mU/l]	24,2 (20,3–32,2)	21,4 (17,8–27,7)	25,1 (21,3–33,7)	–
HOMA-IR	5,86 (4,70–7,04)	5,03 (4,35–6,77)	5,95 (5,02–7,40)	–
T-C [mmol/l]	5,09 (4,21–5,96)	5,36 (4,30–6,00)	4,69 (4,21–5,96)	–
TG [mmol/l]	1,45 (1,06–2,29)	1,45 (1,06–1,97)	1,51 (1,02–2,38)	–
HDL-C [mmol/l]	1,04 (0,88–1,15)	1,03 (0,88–1,11)	1,09 (0,85–1,15)	–
LDL-C [mmol/l]	3,16 (2,31–3,99)	3,59 (2,17–4,35)	2,79 (2,51–3,68)	–

Objaśnienia: BMI – wskaźnik masy ciała (ang. *body mass index*); ESS – skala senności Epworth; AHI ang. *apnoea-hypopnoe index* – indeks bezdechów i słyceń oddychania; SBP – ciśnienie krwi skurczowe; DBP – ciśnienie krwi rozkurczowe; hsCRP – stężenie białka C-reaktywnego w surowicy; WBC – liczba leukocytów we krwi; G-0' i G-120' – glikemia w 0' i 120 min. OGTT (ang. *oral glucose tolerance test*); HOMA-IR ang. *homeostasis model assessment of insulin resistance* – wskaźnik insulinooporności; stężenia w surowicy krwi: T-C – stężenie cholesterolu całkowitego; TG – triglicerydów; HDL-C – cholesterolu HDL, LDL-C – cholesterolu LDL.

Tabela 4.11. Porównanie podgrup pacjentów o największym stopniu nasilenia zaburzeń oddychania w czasie snu testem U Mann-Whitney. Wskazano różnice istotne statystycznie pomiędzy OBS-3A i OBS-3B. Charakterystyka zapisów snu w oparciu o badanie polisomnograficzne (EMBLA S4000) w badanych grupach – OBS ciężki z podgrupami. Wyniki przedstawiono jako medianę oraz zakres międzykwartyłowy. Grupy: OBS-3 (AHI – > 30) (n = 28); OBS-3A (AHI – >30–50) (n = 18); OBS-3B (AHI – > 50) (n = 14)

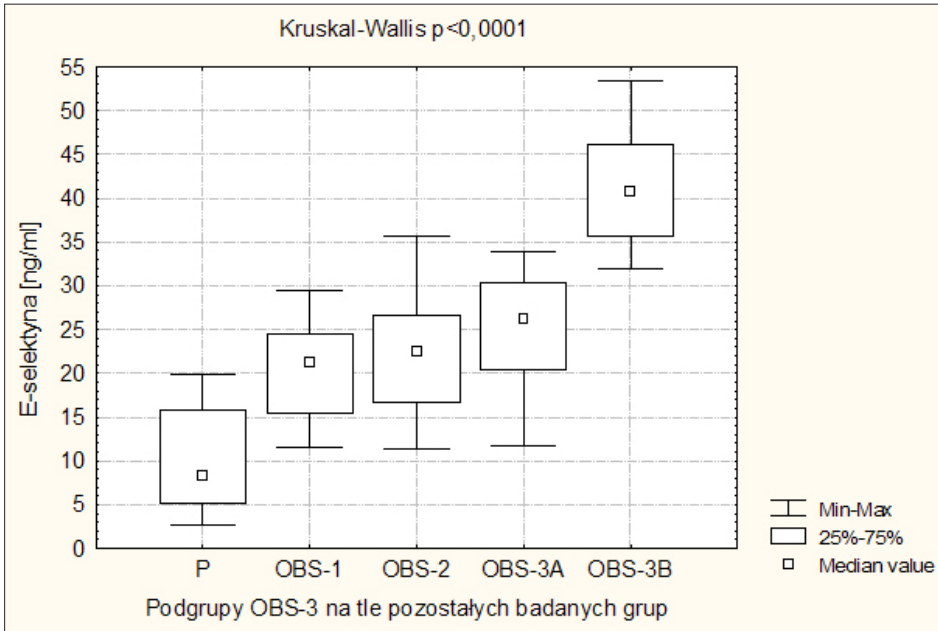
	OBS-3 n = 28	OBS-3A n = 14	OBS-3B n = 14	test U Mann-Whitney
AHI	51,1 (37,3–64,8)	37,3 (35,8–41,0)	64,85 (60,3–68,5)	z założenia p < 0,0001
całkowity czas snu [min]	279 (229–350)	304 (264–358)	229 (188–318)	p = 0,0487
% czasu snu / czas badania	65,6 (57,9–81,1)	73,0 (61,4–86,3)	58,2 (42,8–73,9)	p = 0,0138
całkowity czas czuwania [min]	132 (75–198)	106 (60–166)	164 (107–208)	–
% czasu czuwania / czas badania	34,4 (18,9–42,1)	27,0 (13,7–38,6)	41,8 (26,1–57,2)	p = 0,0138
NREM 1 [%]	7,6 (3,1–17,1)	6,1 (3,1–17,1)	7,6 (2,9–17,3)	–
NREM 2 [%]	42,7 (28,2–55,1)	43,8 (33,9–56,9)	37,9 (17,9–53,6)	–
NREM 3 [%]	32,2 (15,2–57,2)	27,4 (14,8–49,1)	46,4 (15,1–64,7)	–
REM [%]	11,3 (3,6–15,0)	13,4 (7,8–16,4)	3,6 (0,0–12,4)	p = 0,0338
średnia S _a O ₂	92,7 (90,5–93,9)	93,4 (91,9–94,7)	91,9 (86,3–93,0)	p = 0,0364
minimalne S _a O ₂	79,5 (67,0–84,5)	81,5 (78,0–87,0)	71,9 (62,0–82,0)	p = 0,0500
% czasu S _a O ₂ < 90 %	13,3 (3,0–41,0)	5,2 (0,8–15,2)	28,4 (11,4–66,6)	p = 0,0123

Objaśnienia: AHI ang. *apnoea-hypopnoe index* – indeks bezdechów i słyceń oddychania; NREM 1, NREM2, NREM 3, REM – odsetek poszczególnych stadiów snu podczas badania; średnia S_aO₂ – średnie wysycenie hemoglobiny tlenem podczas badania; minimalne S_aO₂ – minimalne wysycenie hemoglobiny tlenem podczas badania; % czasu S_aO₂ < 90 % – odsetek czasu snu z wysyceniem hemoglobiny tlenem poniżej 90%.

Tabela 4.12. Porównanie podgrup pacjentów o największym stopniu nasilenia zaburzeń oddychania w czasie snu testem U Mann-Whitney w ujęciu wyników badań selektyn oraz parametrów stresu oksydacyjnego. Wskazano różnice istotne statystycznie pomiędzy OBS-3A i OBS-3B. Wyniki przedstawiono jako medianę oraz zakres międzykwartylowy. Grupy: OBS-3 (AHI – > 30) (n = 28); OBS-3A (AHI – > 30–50) (n = 14); OBS-3B (AHI – > 50) (n = 14)

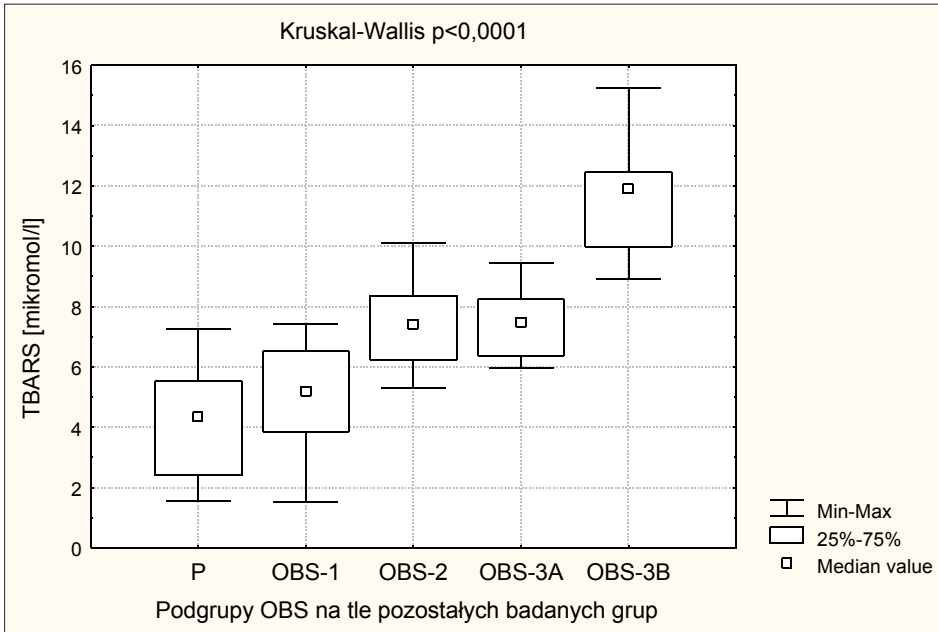
	OBS-3 n = 28	OBS-3A n = 14	OBS-3B n = 14	test U Mann-Whitney
L-sel [ng/ml]	2872,7 (2390,3–3478,0)	2843,2 (2399,7–3220,2)	3038,1 (2380,9–4353,1)	–
xL-sel / 10 ²	77,14 (28,70–141,00)	61,5 (32,6–141,0)	98,62 (24,73–141,0)	–
E-sel [ng/ml]	33,55 (26,38–40,74)	26,38 (20,34–30,37)	40,74 (35,61–46,03)	p < 0,0001
P-sel [ng/ml]	72,18 (44,45–83,79)	47,04 (43,15–73,74)	80,80 (57,36–104,54)	p = 0,0169
TBARS [μmmol/l]	9,18 (7,49–11,93)	7,49 (6,36–8,25)	11,92 (9,98–12,45)	p < 0,0001
TAS [mmol/l]	1,14 (1,01–1,27)	1,20 (1,08–1,28)	1,16 (0,92–1,18)	–
AHI	51,1 (37,3–64,8)	37,3 (35,8–41,0)	64,85 (60,3–68,5)	z założenia p < 0,0001

Objaśnienia: L-sel – stężenie selektyny L w surowicy; x L-sel – ekspresja genu dla L-selektyny; P-sel – stężenie P-selektyny; E-sel – stężenie E-selektyny; TBARS – ang. *thiobarbituric reacting substances* – stężenie substancji reagujących z kwasem tiobarbituranowym; TAS – ang. *total antioxidant status* – całkowity stan antyoksydacyjny osocza; AHI ang. *apnoea-hypopnoe index* – indeks bezdechów i słyceń oddychania.



E-sel: Kruskal-Wallis test, $p < 0,0000$. Dunn test, $p = :$					
	P	OBS-1	OBS-2	OBS-3A	OBS-3B
P		0,0059	0,0005	0,0001	0,0000
OBS-1	0,0059		1,0000	1,0000	0,0000
OBS-2	0,0005	1,0000		1,0000	0,0004
OBS-3A	0,0001	1,0000	1,0000		0,0525
OBS-3B	0,0000	0,0000	0,0004	0,0525	

Rycina 4.7. Porównanie stężeń E-selektyny w surowicy między badanymi grupami oraz podgrupami: P, OBS-1, OBS-2, OBS-3A i OBS-3B: testem Kruskala-Wallisa (rycina) i *post hoc* testem Dunna (Tabela). Liczebność grup: P ($n = 24$), OBS-1 ($n = 24$), OBS-2 ($n = 24$), OBS-3A ($n = 14$) i OBS-3B ($n = 14$).



TBARS: Kruskal-Wallis test, $p < 0,0001$. Dunn test, $p =$:					
	P	OBS-1	OBS-2	OBS-3A	OBS-3B
P		1,0000	0,0000	0,0003	0,0000
OBS-1	1,0000		0,0027	0,0131	0,0000
OBS-2	0,0000	0,0027		1,0000	0,0269
OBS-3A	0,0003	0,0131	1,0000		0,0952
OBS-3B	0,0000	0,0000	0,0269	0,0952	

Rycina 4.8. Porównanie stężeń TBARS w osoczu między badanymi grupami oraz podgrupami: P, OBS-1, OBS-2, OBS-3A i OBS-3B: testem Kruskala-Wallisa (rycina) i *post hoc* testem Dunna (Tabela). Liczebność grup: P (n = 24), OBS-1 (n = 24), OBS-2 (n = 24), OBS-3A (n = 14) i OBS-3B (n = 14).

5. Dyskusja

Motywy do podjęcia przedstawianych badań był nadal niewyjaśniony wpływ obturacyjnego bezdechu sennego na stopień nasilenia patologii wybranych mechanizmów pośrednich. Ważnym więc zadaniem stało się stworzenie modelu badawczego odwzorowującego różne stopnie nasilenia obturacyjnych zaburzeń oddychania podczas snu w grupach odpowiednich pacjentów pod względem podstawowych cech klinicznych oraz parametrów antropometrycznych, wykluczając – w możliwie dostępny sposób – zaburzenia gospodarki węglowodanowej.

Jako przedmiot badań przyjęto dokonanie oceny wpływu stopnia ciężkości obturacyjnego bezdechu sennego na wybrane wykładniki nasilenia procesów patogenetycznych z uwzględnieniem selektyn oraz stresu oksydacyjnego.

Dokonano analizy stężeń we krwi cząsteczek adhezyjnych – selektyn oraz ekspresji genu dla L-selektyny u pacjentów w różnych stopniach nasilenia obturacyjnego bezdechu sennego oraz porównano ją z grupą osób bez rozpoznanych zaburzeń oddychania w czasie snu. Dokonano oceny wybranych parametrów stresu oksydacyjnego u chorych z różnym stopniem nasilenia obturacyjnego bezdechu sennego, a także porównania z grupą osób bez rozpoznanych zaburzeń oddychania w czasie snu. Ponadto podjęto próbę określenia ewentualnej przydatności diagnostycznej tych biomarkerów do klasyfikacji ciężkości OBS.

Podczas badania dokonano porównania wybranych parametrów w trzech odpowiednich ilościowo grupach chorych z obturacyjnym bezdechem sennym. Dokonano odniesienia do grupy porównawczej osób, u których – choć nie rozpoznano istotnych klinicznie zaburzeń oddychania podczas snu – wcześniej stawiano takie podejrzenie kierując je do badania wstępnego kwalifikującego do pobytu szpitalnego, a następnie do badania polisomnograficznego i procedur z nim związanych, co wynikało z protokołu badania.

Kwalifikacja do prowadzonych badań wymagała zachowania niezwyklej staranności związanej z koniecznością uzyskania odpowiednich grup pacjentów, u których na uzyskiwane wyniki nie wpływałyby czynniki modyfikujące, takie jak otyłość czy zaburzenia gospodarki węglowodanowej. Wydaje się, że niezwykle istotnym elementem przeprowadzonego badania była właśnie kwalifikacja pacjentów nieobarczonych istotnymi zaburzeniami gospodarki węglowodanowej. Potwierdzają to wyniki badań przedstawianych

we wcześniejszych pracach, na które wpływ miały zaburzenia gospodarki węglowodanowej [213, 214, 215].

Do badań zakwalifikowano grupy pacjentów: P – porównawcza – bez parametrów polisomnograficznych potwierdzających obturacyjny bezdech senny oraz 3 grupy chorych z potwierdzonym rozpoznaniem OBS. Grupy chorych zostały podzielone według stopnia ciężkości choroby zgodnie z obowiązującymi zasadami kwalifikacji [6, 7]: OBS-1 ze schorzeniem łagodnym, OBS-2 ze schorzeniem umiarkowanym, OBS-3 ze schorzeniem zakwalifikowanym jako ciężkie. Grupy te nie różniły się pod względem wieku, talii, BMI, ciśnienia skurczowego oraz rozkurczowego krwi. To pozwoliło na spełnienie podstawowego warunku zapewniającego uzyskanie wyników badań laboratoryjnych bez wpływu powyżej wymienionych czynników.

Nadciśnienie tętnicze rozpoznawano uprzednio u części pacjentów: w grupie P – u 4/24 pacjentów (16,7%), w grupie OBS-1 u 9/24 pacjentów (37,5%), w grupie OBS-2 u 10/24 pacjentów (41,7%), w grupie OBS-3 u 16/28 pacjentów (57,1%). Wydaje się, że odsetek ten nie odbiegał znacząco od sugestii badaczy określających częstość występowania nadciśnienia tętniczego pacjentów z OBS [107, 114, 131]. Grote i wsp. stwierdzili, że prawdopodobieństwo występowania nadciśnienia tętniczego wzrasta wraz ze zwiększaniem się AHI. U pacjentów do 50. roku życia, przy prawdopodobieństwie wynoszącym dla AHI < 5 – 1, ryzyko przy AHI 10–19 wynosi 3,2, przy AHI 20–40 – 3,3, a przy AHI powyżej 40 – 7,1. Zdecydowanie mniejsze było ryzyko u pacjentów starszych. Dla pacjentów powyżej 50. roku życia prawdopodobieństwo wynosiło odpowiednio: przy AHI 10–19 – 1,4, przy AHI 20–40 – 1,5, a przy AHI powyżej 40 – 2,7 [74].

Wśród wyznaczników antropometrycznych, określanych w badaniu, jedynym czynnikiem wykazującym różnicowanie grup z OBS okazał się obwód szyi, największy w grupie ciężkiego OBS w porównaniu z grupą OBS łagodnego. Potwierdza to spostrzeżenia, że zwiększony obwód szyi może być brany pod uwagę jako jeden z elementów oceny klinicznej podczas kwalifikacji do badania polisomnograficznego [61, 76]. W praktyce klinicznej ocenia się tzw. skorygowany obwód szyi, z uwzględnieniem dodawania do obwodu szyi określonej w centymetrach wartości: 4 przy nadciśnieniu tętniczym, 3 przy nawykowym chrapaniu oraz 3 przy nocnym duszeniu i dławieniu. Jeśli uzyskany wynik wynosi powyżej 48, ryzyko OBS określane jest jako duże [62]. Posługując się regułą skorygowanego obwodu szyi zaproponowano nawet uproszczony algorytm postępowania diagnostycznego [60].

Pełniejszą prawidłową metodologicznie interpretację uzyskanych wyników badań laboratoryjnych umożliwia fakt, że nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic dotyczących zarówno czasu snu oraz czasu czuwania

podczas badania PSG między badanymi grupami. Podobnie odsetek poszczególnych aktywności w trakcie badania (tj. snu i czuwania) nie różnił się. Między grupami nie stwierdzono także różnic związanych z odsetkiem poszczególnych stadiów snu (NREM 1, NREM 2, NREM 3, REM).

Warto zwrócić uwagę na stosunkowo niski odsetek czasu snu podczas wykonywanego badania – odniesiony do czasu całonocnej rejestracji. Podobne trudności występują podczas wykonywania badań polisomnograficznych w warunkach szpitalnych, często zmienionych w porównaniu z normalnym odpoczynkiem nocnym pacjentów w warunkach domowych [6].

Mimo że do badania kwalifikowano tylko osoby z prawidłową, tj. w zakresie wartości referencyjnych, liczbą leukocytów (WBC) w morfologii krwi obwodowej i stężeniem hsCRP < 9mg/l, co z dużym prawdopodobieństwem wykluczało ostry proces zapalny bądź inny stan patologiczny, to badane grupy różniły się stężeniem białka C-reaktywnego z najwyższą medianą hsCRP w grupie OBS-2 w odniesieniu do grupy porównawczej.

W przeszłości sugerowano, że w OBS dochodzić może do podwyższenia wykładników zapalenia. Białko ostrej fazy CRP syntetyzowane jest w wątrobie, poddając się regulacji IL-6 [20]. Podwyższenie jego stężeń jest uważane za czynnik ryzyka sercowo-naczyniowego, choć taka rola była również kwestionowana [48].

Niektóre spośród przeprowadzonych w przeszłości badań sugerowały związek CRP z nasileniem patologii OBS [116, 223], jednakże inne wyniki nie potwierdzały takiego związku [1, 27, 177, 191, 179]. W Wisconsin Sleep Cohort Study – na próbie 907 uczestników badania – również nie potwierdzono zależności między stężeniami CRP a OBS [205].

Także próby określenia wpływu terapii CPAP na obniżenie stężeń CRP przyniosły dyskusyjne wyniki [1, 223]. W badaniu Philipsa z roku 2007 podczas krótkotrwałego wycofania się z terapii CPAP zauważono wzrost aktywności współczulnej bez wzrostu stężeń CRP oraz IL-6 [157]. Należy jednak podkreślić, że w badaniu Kohlera i wsp. – w grupach po około 50 pacjentów z OBS umiarkowanym bądź ciężkim – nie potwierdzono wpływu terapeutycznego bądź subterapeutycznego leczenia przy użyciu CPAP na stężenie CRP. Nie uzyskano zmniejszenia stężeń markerów zapalenia po 4 tygodniach leczenia. Dotyczyło to parametrów takich jak CRP, IL-6, a także INF- γ oraz adiponektyna [94]. Czterotygodniowy czas leczenia przy użyciu CPAP nie wydaje się mieć korzystnego wpływu na profil przeciwzapalny. Można przypuszczać, że czas terapii był zbyt krótki. Ten problem wymaga nadal wyjaśnienia.

Powyższe dane sugerują, że ze względu na występowanie innych schorzeń, zwłaszcza cukrzycy bądź chorób układu krążenia wśród uczestników

cytowanych badań, można przypuszczać, że podwyższone stężenia CRP w części spośród nich mogło być związane bardziej z wymienionymi sytuacjami klinicznymi niż z patologią OBS.

Podwyższenie stężenia hsCRP w grupie pacjentów z OBS umiarkowanym w przeprowadzonym badaniu może unaoczniać złożony kontekst sytuacyjny pacjentów z OBS. Należy uznać je jednak za element kontrowersyjny w kontekście szerszych rozważań oraz wyrażanych w poprzednich badaniach wątpliwościach. [1, 27, 94, 116, 157, 177, 191, 179, 223].

Mimo zachowanej dbałości i starannej kwalifikacji osób porównywalnych pod względem parametrów antropometrycznych i metabolicznych, w tym wykluczeniu pacjentów z dysglikemią (szczegóły w rozdziale 2), rozpoznanie różnych stopni nasilenia OBS ujawniło tendencję do zmniejszających się stężeń cholesterolu we frakcji HDL – z najbardziej zaznaczonym efektem w grupie OBS-3. Stanowić może potwierdzenie sugestii badaczy upatrujących w OBS niezależny czynnik ryzyka chorób sercowo-naczyniowych [50, 64, 125, 126, 224]. Małe stężenia HDL-C stanowią silny, niezależny i negatywny czynnik predykcyjny ryzyka przedwczesnego rozwoju miażdżycy i chorób sercowo-naczyniowych [44], a wzrost HDL-C o $\geq 7,5\%$ wraz z obniżeniem LDL-C do wartości docelowych $< 2,0$ mmol/l (poniżej ~ 80 mg/dl), były minimalnym warunkiem do regresji blaszki miażdżycowej w metaanalizie czterech badań interwencyjnych, w których zastosowano wewnątrznaczyniowe badanie ultrasonograficzne do oceny zmian objętości blaszki miażdżycowej [141]. Wiadomo jednak, że w sytuacji istnienia wielu czynników ryzyka poznanie prostych zależności wydaje się być niezwykle utrudnione [22, 66, 128].

Choć w procesie kwalifikacji do badań przeprowadzono test doustnego obciążenia glukozą (OGTT) i z dalszego etapu wykluczono osoby ze świeżo wykrytą cukrzycą oraz stanami przedcukrzycowymi (nieprawidłową glikemią na czczo bądź upośledzoną tolerancją glukozy), w zakresie parametrów gospodarki węglowodanowej zaobserwowano zwiększanie się glikemii na czczo począwszy od grupy porównawczej do OBS-3, z istotną statystycznie różnicą pomiędzy grupą P a OBS-3. Osoby badane nie różniły się jednak stężeniami glikemii w 120 minucie testu. Obserwowano także różnice w stężeniu insuliny na czczo, najwyższe wartości w grupie OBS ciężkiego w porównaniu z OBS umiarkowanym (OBS-2). Podobną tendencję zaobserwowano w przypadku HOMA-IR. Najwyższe wartości stwierdzono w grupie OBS-3 w porównaniu z grupą OBS-2. Powyższe stwierdzenia nie wskazują na uchwytnie klinicznie cechy patologii, jednak tłumaczą podejmowane w przeszłości i kontynuowane badania dotyczące kontekstu OBS

związanego z zaburzeniami metabolizmu glukozy. Potwierdzono bowiem wcześniej, że powtarzające się niedotlenia prowadzące do hipoksji tkanekowej oraz charakterystyczne dla OBS wielokrotnie nawracające wybudzenia powodują aktywację układu współczulnego, tkanki tłuszczowej, a także osi podwzgrze–przysadka–kora nadnerczy, co zwiększa wydzielanie steroidów. W konsekwencji prowadzi to do pobudzenia glikogenolizy, glukoneogenezy, lipolizy, a także powoduje wzrost stężenia wolnych kwasów tłuszczowych oraz wydzielanie glukagonu. W badaniach klinicznych w grupie chorych z OBS potwierdzono związki tego stanu chorobowego z rozwojem insulinooporności, stanów przedcukrzycowych czy cukrzycy [24, 162, 167]. Relacja OBS oraz cukrzycy II typu z otyłością jest tak istotna, że w praktyce niezwykle trudno jest oceniać niezależny od otyłości wpływ OBS na cukrzycę i odwrotnie [38]. W związku z tym niezwykle cenne będą wyniki dalszych badań określających zaburzenia gospodarki węglowodanowej u chorych z zaburzeniami oddychania podczas snu bez nadwagi bądź otyłości.

Z założeń pracy wynikały różnice w wartościach parametrów polisomnograficznych (AHI) oraz skali senności Epworth, co pozwoliło na podział pacjentów na grupy badane. Zwiększanie się skali patologii związanej z zaburzeniami oddychania podczas snu potwierdziły zaobserwowane różnice średniej S_aO_2 , wykazując tendencję do obniżania się w poszczególnych grupach z najniższym w OBS ciężkim w porównaniu z grupą porównawczą. Potwierdziły je również stwierdzane różnice minimalnej S_aO_2 z progresywnym obniżaniem od grupy porównawczej ku grupie bezdechu obturacyjnego ciężkiego. Kolejnym potwierdzeniem nasilania się zaburzeń w miarę wzrostu stopnia nasilenia OBS były różnice czasu podczas snu z wysyceniem hemoglobiny tlenem (S_aO_2) < 90%. Obniżenie to podobnie narastało od grupy kontrolnej ku grupie OBS ciężkiego.

Dane te – potwierdzające narastające nasilenie patologii zaburzeń oddychania podczas snu w poszczególnych grupach – stanowią istotnie podłoże dla prawidłowej interpretacji omawianych poniżej zaburzeń związanych ze stężeniami selektyn, wyników badania molekularnego związanego z ekspresją genu dla L-selektyny oraz wybranych wykładników stresu oksydacyjnego w kontekście kwalifikacji chorych do poszczególnych stopni ciężkości OBS.

5.1. Stężenia selektyn w surowicy i ich zależności od nasilenia obturacyjnego bezdechu sennego

W ostatnich latach badacze zwrócili uwagę na selektyny jako przykład cząsteczek adhezyjnych mogących stanowić istotny element patogenetyczny w kontekście działania proaterogennego, stąd w badaniu podjęto się próby bliższego zapoznania się z tym aspektem w odniesieniu do zaburzeń oddychania podczas snu.

Leukocyty inicjują przyleganie monocytów do komórek śródbłonna, który bierze udział w wydzielaniu licznych mediatorów zapalenia, takich jak TNF- α , IL-1, chemokiny, takie jak IL-8, a także MCP-1 oraz cząsteczek adhezyjnych, takich jak ICAM-1 czy selektyny. Ekspresja cząsteczek adhezyjnych oraz chemokin powoduje rekrutację makrofagów, różnicujących się z monocytów [91, 151].

W warunkach prawidłowych krążące leukocyty są odporne na interakcje z komórkami śródbłonna. Dopiero pod wpływem różnych czynników stymulujących, włączając w to zapalenie, infekcję, hipercholesterolemię, epizody hipoksemii i reoksygenacji, cząsteczki adhezyjne i cytokiny modyfikują zarówno komórki krwi, jak i komórki śródbłonna. Ekspresja cząsteczek adhezyjnych jest ściśle regulowanym procesem, który ułatwia relacje między komórkami krwi i śródbłonna. Te właśnie interakcje sprzyjają przyleganiu do śródbłonna.

Selektyny, takie jak: L-selektyna w leukocytach, E-selektyna w komórkach śródbłonna oraz P-selektyna w płytkach krwi, ułatwiają więc połączenie między leukocytami a komórkami śródbłonna. Trwałe połączenie mediowane jest przez integryny [102].

Jednym z pierwszych elementów działania miażdżycotwórczego jest właśnie uwalnianie adhezyn, które torują przyleganie krążących leukocytów do komórek śródbłonna [63]. Procesy te zależą od kaskady zdarzeń mediowanych przez rodzinę cząsteczek adhezyjnych obecnych i prezentujących się na powierzchni komórek śródbłonna [2, 138].

Do komórek śródbłonna, komórek mięśni gładkich oraz makrofagów tkankowych przylegają takie adhezyny, jak VCAM-1, ICAM-1 oraz E-selektyna [111, 144]. Wyżej wymienione cząsteczki adhezyjne wspomagają toczenie się (*rolling*) monocytów i limfocytów, przyleganie ich oraz zśródbłonkową migrację [3, 16, 69, 120].

Potwierdzono, że cząstki adhezyjne mają charakter predykcyjny w stosunku do przyszłego ryzyka sercowo-naczyniowego w populacji osób zdrowych [82, 170], a także są związane z wykładnikami patologii u osób z udokumentowanymi chorobami sercowo-naczyniowymi [21].

Uwalnianie cząstek adhezyjnych jest stymulowane przez prozapalne cytokiny, jak również wykładniki stresu oksydacyjnego [173, 174, 181, 182].

W kilku badaniach opisano związki ekspresji cząsteczek adhezyjnych z subpopulacjami leukocytów oraz komórkami śródbłonna w OBS [51, 53, 54, 55, 102, 110]. Obserwowany wzrost stężeń adhezyn u pacjentów z OBS w porównaniu z grupami kontrolnymi dotyczył:

- ICAM-1 [147, 209],
- VCAM-1 [146, 209],
- E-selektyny [56] oraz
- L-selektyny [146].

Niestety niektóre z powyższych badań nie miały prawidłowo dobranej grupy kontrolnej, nie uwzględniały chociażby otyłości brzusznej [25, 80, 146]. Z kolei badanie Ogha i wsp. z roku 1999, w którym stwierdzono podwyższenie stężeń ICAM-1, VCAM-1 oraz L-selektyny u pacjentów z OBS, dotyczyło wyłącznie 7 pacjentów z OBS oraz 6 pacjentów z grupy kontrolnej [146]. Badanie natomiast El-Solh i wsp. obejmowało 30 osób z przewlekłą niewydolnością wieńcową, w tym 15 pacjentów z OBS oraz 15 bez zaburzeń oddychania podczas snu. Uzyskano w nim podwyższenie stężeń ICAM-1, VCAM-1 oraz E-selektyny [56].

W tym miejscu trzeba zaznaczyć, że zamiar prowadzenia badania własnego związany był m.in. z zapewnieniem właściwych grup badanych, umożliwiających porównanie przy braku zróżnicowania związanego z parametrami klinicznymi, w tym antropometrycznymi. Ponadto do badania własnego włączono większą grupę pacjentów.

W trakcie przeprowadzonych badań własnych potwierdzono istotne zmiany stężeń selekty: E, P oraz L, a także zmiany ekspresji genu kodującego L-selektynę w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (PBMC) oznaczonej w technice biologii molekularnej.

Badanie L-selektyny w surowicy potwierdziło wzrastanie stężeń w poszczególnych grupach OBS wraz ze wzrostem nasilenia patologii zaburzeń oddychania podczas snu. Obserwowano statystycznie istotną różnicę między pacjentami z zaburzeniami ciężkimi w stosunku do pacjentów z OBS łagodnym oraz z grupą porównawczą. Podobną relację stwierdzano między OBS umiarkowanym a grupą porównawczą. Tendencja związana ze wzrostem stężeń L-selektyny w surowicy okazała się jednoznaczna.

W badaniu El-Solh i wsp. (2002) nie zaobserwowano tendencji wzrostu stężeń L-selektyny u pacjentów z OBS [56]. We wcześniejszym badaniu Ogha i wsp. (1999) stwierdzono podwyższenie tych stężeń, jednakże wyniki badania zostały zakwestionowane ze względu na małą grupę badanych pacjentów [146].

W badaniu własnym uzyskano także – analogiczne do oznaczeń stężeń L-selektyny – wyniki dotyczące wzrostu stężeń E-selektyny w surowicy: potwierdzono wzrastanie stężeń E-selektyny w poszczególnych grupach OBS wraz z nasileniem stopnia obturacyjnych zaburzeń oddychania podczas snu. Warto zwrócić uwagę, że statystycznie istotne różnice obserwowano zasadniczo między wszystkim grupami (za wyjątkiem różnicy między OBS łagodnym a umiarkowanym). Zróżnicowanie stężeń E-selektyny w poszczególnych grupach okazało się najbardziej wyraziste. Ponadto znacząca różnica między stężeniami E-selektyn z grup OBS ciężkiego i umiarkowanego stała się impulsem do przeprowadzenia dodatkowego podziału grupy OBS-3 na dwie podgrupy, mimo stosunkowo niedużej ich liczebności. Wyniki z tym związane zostaną omówione w dalszej części dyskusji.

Należy zaznaczyć, że podczas wcześniej prowadzonych badań – choć stwierdzano wzrost stężeń E-selektyny w grupach pacjentów z OBS w porównaniu z grupą bez zaburzeń oddychania [41] – nie stwierdzono obserwowanego w obecnym badaniu istotnego statystycznie wzrostu dotyczącego pacjentów z ciężkim OBS. Obecnie potwierdzono istnienie znamiennej dodatniej korelacji między stężeniem tej selektyny a wskaźnikiem bezdechów i słyceń oddychania (AHI). Podobnej korelacji nie udało się potwierdzić wcześniej.

W jednym z badań stwierdzono podwyższenia stężeń E-selektyny, a jej wartości znacząco korelowały z obniżaniem się parametru ODI [232]. Podobne relacje w tym badaniu potwierdzono w kontekście cząsteczki ICAM-1.

Powyższe wyniki odpowiadają rezultatom badań Yun i wsp. (2010), w których stwierdzono ponadto pogrubienie błony wewnętrznej i środkowej tętnicy szyjnej (ang. *carotid intima-media thickness* – IMT) [228].

Z kolei w badaniu El-Solh i wsp. (2002) stężenie E-selektyny w surowicy u pacjentów z OBS było zwiększone w grupie pacjentów z OBS w porównaniu z grupą kontrolną oraz korelowało dodatnio ze stopniem nasilenia zaburzeń oddychania wyrażonym parametrami: AHI oraz ODI [56].

Warto podkreślić, że badanie Chin i wsp. potwierdziło korzystny wpływ 4–6-tygodniowej terapii przy użyciu CPAP na uzyskanie zmniejszenia stężeń E-selektyny u pacjentów z OBS [33]. Jeśli nawet bezpośredni mechanizm tego efektu nie został określony, to jednak sugeruje to potencjalną możliwość uzyskania odwracalnego wpływu na następstwa związane z rozwojem zmian metabolicznych.

Badanie związane z oznaczeniem stężenia P-selektyny w surowicy potwierdziło wzrost stężeń w grupach OBS umiarkowanego oraz ciężkiego

w stosunku do grupy porównawczej. Nie obserwowano jednak istotnych statystycznie różnic między poszczególnymi grupami chorych z OBS.

W badaniach podejmujących próby określenia w OBS stanu związanego z wykładnikami krzepnięcia i trombolizy brano pod uwagę P-selektynę, związaną z czynnikami płytkowymi. W badaniu O'Brien'a i wsp. uzyskano potwierdzenie, że stężenia we krwi P-selektyny, jako wykładnika aktywacji płytek, korelują ze stopniem nasilenia OBS [145]. We wcześniejszym jednak badaniu Robinsona i wsp. z roku 2004 nie potwierdzono tej hipotezy. Poddanie pacjentów leczeniu CPAP przez miesiąc nie spowodowało bowiem zmniejszenia stężeń tej selektyny. Autorzy badania poddali więc w wątpliwość wnioski o związku stężeń P-selektyny ze stopniem nasilenia OBS [171]. Można jednak zastanowić się, czy leczenie przy użyciu dodatkowego ciśnienia nie było prowadzone zbyt krótko.

Corsonello i wsp. postulowali, że podwyższone stężenia P-selektyny wynikają z otyłości i podwyższonych stężeń leptyny, która aktywuje płytki krwi, a nie jest skutkiem wpływu zaburzeń oddychania podczas snu [45, 157].

Należy podkreślić, że w badaniach Yun i wsp. stwierdzono podwyższone stężenia P-selektyny, jednakże nie potwierdzono korelacji między jej stężeniem a nasileniem zaburzeń wyrażanych w formie AHI, jak również z wykładnikami pogrubienia błony wewnętrznej i środkowej tętnicy szyjnej [228].

Przeprowadzone badanie własne potwierdziło wyniki badań Minoguchi i wsp. z roku 2007, w którym zaobserwowano podwyższone stężenia P-selektyny w grupach pacjentów z umiarkowanym i ciężkim OBS. W badaniu tym potwierdzono u pacjentów z tymi stopniami nasilenia zaburzeń oddychania podczas snu częstsze występowanie powikłań związanych z niedokrwieniem mózgu, potwierdzonych w badaniu rezonansu magnetycznego. Dodatkowo stężenie P-selektyny było wyższe w grupie pacjentów z OBS ze zmianami stwierdzanymi w ośrodkowym układzie nerwowym w porównaniu z pacjentami z OBS bez tych zmian. Na uwagę zasługuje fakt, że prowadzone trzymiesięczne leczenie przy użyciu protezy powietrznej (CPAP) zmniejszyło istotnie statystycznie stężenie P-selektyny u pacjentów z umiarkowanym i ciężkim OBS [133].

W porównaniu do prowadzonych uprzednio badań [40] zaobserwowano bardziej wyraziste zróżnicowanie, potwierdzając istotną statystycznie różnicę nie tylko między OBS ciężkim a grupą bez potwierdzanych zaburzeń, ale także między grupą OBS stopnia umiarkowanego w odniesieniu do grupy porównawczej.

5.2. Ekspresja genu kodującego L-selektynę w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (PBMC) i zależność od nasilenia obturacyjnego bezdechu sennego

Niewątpliwie nowym elementem przeprowadzonego badania było zastosowanie techniki biologii molekularnej dla oceny ekspresji genu dla L-selektyny. Ta dokonana po raz pierwszy ocena potwierdziła wzrost ekspresji w poszczególnych grupach wraz ze wzrastaniem nasilenia zaburzeń oddychania podczas snu. Nie stwierdzano jedynie statystycznie istotnych różnic między OBS stopnia łagodnego oraz umiarkowanego, mimo wyraźnej obserwowanej tendencji wzrostowej.

Podobnie jak w przypadku L-selektyn, zwrócono uwagę na znaczący rozrzut ekspresji genu kodującego L-selektynę w obrębie grupy z ciężkim OBS, co stało się dodatkowym asumptem do podziału tej grupy na dwie podgrupy: z zaburzeniami obturacyjnymi ciężkimi (OBS-3A) oraz bardzo ciężkimi (OBS-3B).

W przypadku określenia ekspresji genu dla L-selektyny uzyskano ogólną tendencję, analogiczną jak w przypadku oceny stężeń L-selektyny, za wyjątkiem istotnej statystycznie różnicy także między grupą OBS łagodnego w stosunku do grupy porównawczej. Oznaczanie ekspresji genu dla L-selektyny może być zatem czułym testem różnicującym osoby z zaburzeniami łagodnymi z osobami niedemonstrującymi istotnych klinicznie zaburzeń oddychania podczas snu. Podobny wynik różnicujący uzyskano jedynie w przypadku porównania grupy OBS-1 z grupą porównawczą w przypadku stężeń E-selektyny.

Jednym z elementów dyskusji jest zwrócenie uwagi na wybrane korelacje. Trzeba zwrócić uwagę, że w przeprowadzonym badaniu uzyskano wysoko dodatnią korelację w całej grupie wszystkich pacjentów z OBS między stężeniami E-selektyny a indeksem bezdechów i spłyceń oddychania oraz – analogicznie – indeksem desaturacji. Korelacja ta – E-selektyny oraz AHI – była w stopniu pełnym w grupie pacjentów z OBS ciężkim.

Podobnie silną zależność stwierdzono w grupie pacjentów z OBS ciężkim między stężeniem E-selektyny a odsetkiem czasu spędzanego przez pacjentów z saturacją poniżej 90%.

Uzyskano wysoką korelację dotyczącą grupy OBS-3 oraz OBS-1 między stężeniem P-selektyny a AHI. Biorąc jednak pod uwagę całą grupę pacjentów z OBS – korelację określono jako przeciętną.

W przeprowadzonym badaniu uzyskano wysoko dodatnią korelację w całej grupie wszystkich pacjentów z OBS między stężeniami L-selektyny a indeksem bezdechów i spłyceń oddychania oraz – analogicznie – indeksem desaturacji.

Korelacje między ekspresją genu L-selektyny w PBMN w całej grupie pacjentów z OBS z AHI okazały się przeciętne, słabsze niż analogicznie w kontekście relacji z L-selektyną.

W przypadku L-selektyny uzyskano w grupie pacjentów z OBS umiarkowanym (OBS-2) wysoką korelację ujemną ze średnią saturacją hemoglobiny w trakcie snu, odsetkiem czasu spędzonego z saturacją poniżej 90% oraz obwodem talii i BMI.

Należy zwrócić uwagę na stosunkowo dużą siłę powiązań – korelacji dodatnich – między określeniem stężeń L-selektyny a ekspresją genu L-selektyny w PBMN w grupie wszystkich pacjentów z OBS oraz w OBS łagodnym i grupie porównawczej.

Należy podkreślić, że nowatorskie w pracy jest zastosowanie oznaczania ekspresji genu dla L-selektyny oraz fakt ukazania w pracy wielu korelacji – jak zaznaczono powyżej.

W związku z licznymi wątpliwościami oraz sprzecznymi wynikami badań dotyczących oznaczanych cząsteczek selektyn, najbardziej przekonujące byłoby uzyskanie potwierdzenia zmian stężeń tych adhezyn podczas prowadzonej terapii OBS [10, 33].

5.3. Wykładniki stresu oksydacyjnego i ich zależności od nasilenia obturacyjnego bezdechu sennego

W literaturze powraca określenie obturacyjnego bezdechu sennego jako patologii opartej potencjalnie na stresie oksydacyjnym [103]. W związku z cyklicznymi zmianami wysycenia hemoglobiny tlenem oraz hipoksemii dochodzi do zaburzenia równowagi między powstawaniem reaktywnych form tlenu a skutecznością mechanizmów antyoksydacyjnych [184]. Ra-

portowano szereg parametrów będących markerami stresu oksydacyjnego u pacjentów z OBS [168, 202, 203, 204]. Stąd – jak wspomiano powyżej – stres oksydacyjny brany jest pod uwagę jako czynnik pośredni w rozwoju konsekwencji OBS [10, 95, 103, 104, 105].

W przeprowadzonym badaniu użyto oznaczeń stężeń substancji reagujących z kwasem tiobarbituranowym jako wykładnika nasilenia stresu oksydacyjnego. Jest on jednym z parametrów istotnych dla oceny nasilenia stresu oksydacyjnego obok oznaczanych stężeń 8-izoprostanu [10].

W przeprowadzonym badaniu, związanym z określeniem stężenia produktów peroksydacji lipidów w osoczu (TBARS), potwierdzono wzrastanie stężeń w poszczególnych grupach. Zaobserwowano statystycznie istotną różnicę między grupami bezdechu ciężkiego oraz łagodnego w odniesieniu do grupy porównawczej. Potwierdzono także różnicę stężeń TBARS między OBS umiarkowanym oraz łagodnym.

Także w innych badaniach dokonywano prób oceny stężeń TBARS w osoczu jako wykładnika peroksydacji lipidów [13, 106]. Wzrost ich stężenia obserwowano w badaniu Barcello i wsp u pacjentów z OBS w porównaniu z grupą kontrolną [13]. Zmniejszenie tego wykładnika peroksydacji obserwowano po zastosowaniu terapii CPAP [13, 106]. Potwierdzenie tego zjawiska uzyskano także w kolejnych badaniach ostatnich lat (Jurado-Gomez i wsp.), uzyskując zmniejszenie stężeń po trzymiesięcznym leczeniu przy użyciu CPAP [88].

Nie stwierdzono różnic dotyczących stężeń TBARS między pacjentami z OBS oraz bez zaburzeń oddychania podczas snu w innym z badań. Nie uwzględniano jednak w tym badaniu stopnia nasilenia zaburzeń, a grupa kontrolna mogła budzić pewne zastrzeżenia związane z brakiem wykonania badań snu [5].

Podobnie zasadniczo nie potwierdzono znaczących różnic stężeń wykładników stresu oksydacyjnego między pacjentami z OBS oraz grupą kontrolną w ciekawym badaniu, w którym parametry stresu oksydacyjnego oraz peroksydacji lipidów określano przed rozpoczęciem badania, następnie po czterech godzinach badania polisomnograficznego bez leczenia, a następnie po czterech godzinach leczenia optymalnego CPAP. Jedynymi stwierdzanymi różnicami było zmniejszanie się wykładników stresu oksydacyjnego po leczeniu CPAP [202].

Ważnym elementem badań nad stresem oksydacyjnym były próby związane z oznaczaniem 8-izoprostanu. W prowadzonych wcześniej badaniach uzyskano potwierdzenie wzrostu stężeń 8-izoprostanu w grupie 31 pacjentów z OBS w porównaniu z 15 pacjentami grupy kontrolnej, nie różnią-

cych się wiekiem, płcią i BMI [4]. Stężenia tego wykładnika stresu oksydacyjnego obniżyły się znacząco po zastosowaniu 12-tygodniowej terapii CPAP o charakterze optymalnym, jednakże nie obniżyły się w przypadku stosowania CPAP o ciśnieniach nieoptymalnych [4]. Wyższe stężenia 8-izoprostanu były potwierdzone także u pacjentów z OBS w mieszaninie wydechowej powietrza [28, 29] w porównaniu z pacjentami o podobnej BMI grupy kontrolnej. Stężenia te uległy obniżaniu podczas terapii przy użyciu CPAP [29, 132].

Wśród innych rozpatrywanych w przeszłości parametrów wymienić należy również stężenie we krwi homocysteiny, które zmniejszało się po zastosowaniu leczenia CPAP w niewielkiej grupie 15 pacjentów [12]. W innych badaniach określających stężenia homocysteiny w OBS nie stwierdzono istotnych zależności [12, 176, 203].

Ważnym elementem oceny pozostaje określenie tzw. potencjału antyoksydacyjnego, którego zmniejszenie sugerowane było u pacjentów z OBS. W opisywanej pracy dokonano określenia zdolności antyoksydacyjnej, wynikającej z mechanizmów zewnątrzkomórkowych – całkowitego stanu antyoksydacyjnego osocza (TAS – ang. *total antioxidant status*). Stanowi on sumę aktywności białek (np. metaloprotein takich jak ceruloplazmina, transferryna i albumina) i antyoksydantów drobnocząsteczkowych (np. wit. E, C, A) osocza.

W przeprowadzonym badaniu dokonano oceny całkowitego stanu antyoksydacyjnego (TAS) w osoczu. Potwierdzono zdecydowane zmniejszenie się jego zdolności w poszczególnych grupach nasilenia zaburzeń oddychania podczas snu. Obserwowano statystycznie istotną różnicę między wszystkim stopniami nasilenia OBS a grupą porównawczą, ponadto między OBS ciężkim i łagodnym.

W poprzednio przeprowadzonych i opublikowanych badaniach autor opracowania podobnie potwierdził [41, 42] zmniejszone stężenia TAS w grupach łagodnego oraz umiarkowanego OBS, jednak bez zaznaczonych różnic w wartościach TAS między grupami pacjentów o różnym stopniu nasilenia patologii.

Obniżony potencjał antyoksydacyjny stwierdzany był już poprzednio w grupach osób otyłych z OBS [12, 36] i był odwracalny podczas stosowania terapii CPAP [12]. Podobnie w badaniach Faure i wsp. (2008) potwierdzono zmiany w rozkładzie albumin u pacjentów z OBS (jako pierwszorzędkowych elementów systemu antyoksydacyjnego), które uległy poprawie po zastosowaniu terapii CPAP [58].

Korelacje parametrów stresu oksydacyjnego z tradycyjnymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego wskazują na podobieństwo metaboliczne OBS-1 oraz grupy P. W grupach tych stres oksydacyjny wydaje się być uwarunkowany obwodem talii, BMI czy glikemią na czczo. Korelacja dodatnia o wysokiej sile została zauważona między TBARS a wartością BMI w grupach: porównawczej oraz OBS łagodnego. Jedynie w grupie OBS-1 zaobserwowano ujemną korelację TAS z HDL-C, co może świadczyć o możliwościach uzupełniania się różnych mechanizmów antyoksydacyjnych w osoczu.

Wśród określanych korelacji parametrów stresu oksydacyjnego oraz selektyn warto zwrócić uwagę na wysoką siłę związku między stężeniem TBARS a selektynami: E-selektyną oraz L-selektyną w grupie wszystkich pacjentów z OBS, za które to zależności mogą być odpowiedzialne korelacje w poszczególnych grupach: TBARS i L-selektyna w grupie OBS-2 i bardzo silna korelacja TBARS z E-selektyną w grupie OBS-3. W grupie porównawczej oraz z zaburzeniami łagodnymi istnieje znacząca korelacja między ekspresją L-selektyny w PBMC a stężeniem białka (L-selektyny) w surowicy.

Mimo wzrostu ekspresji L-selektyny w OBS-1 pacjenci z łagodnymi zaburzeniami podczas snu wydają się zachowywać mechanizmy regulatorowe, co nie przekłada się na statystycznie istotne różnice stężeń L-selektyny w surowicy. Etap łagodnych zaburzeń wydaje się nie przeszkadzać w utrzymaniu regulacji komórki na dotychczasowym poziomie zabezpieczającym przed wzrostem stężenia tej selektyny. Takich zależności nie obserwowano już w grupach z zaburzeniami umiarkowanymi i ciężkimi. Rozważając negatywny wpływ OBS na stężenie i ekspresję L-selektyny wypada stwierdzić, że uwidoczniiony jest w sposób znaczący od etapu OBS-2.

Przeprowadzona analiza regresji wielokrotnej – przy dokonywaniu oceny dla całej grupy pacjentów z OBS – dla omawianych stężeń L-selektyny oraz E-selektyny, a także TAS i TBARS, ukazała, że dla wszystkich tych parametrów współczynnik AHI był głównym predyktorem korelującym niezależnie od pozostałych.

W przypadku analizy prowadzonej dla pacjentów poszczególnych grup (OBS-1, OBS-2, OBS-3) nie wykazywano zmiennej korelującej niezależnie. Jedynie w grupie OBS-3 liniowe zwiększanie wskaźnika AHI okazało się niezależnym predyktorem w stosunku do stężeń E-sel oraz TBARS.

Analiza dotycząca większej grupy pacjentów ukazuje większy wpływ AHI na zaburzenia metaboliczne, opisywane w przedstawianej pracy, i podkreśla rolę AHI jako czynnika wyrażającego nasilenie określanej patologii metabolicznej.

W stosunku do L-selektyny i P- selektyny analiza regresji nie wykazała zmiennych korelujących niezależnie od pozostałych. Ponadto w przypadku grupy porównawczej oraz OBS-1 BMI okazał się być niezależnym predyktorem stężenia TBARS w osoczu. W początkowych etapach patologii związanej z zaburzeniami oddychania podczas snu być może BMI wydaje się mieć szczególne znaczenie.

Porównania wykładników stresu oksydacyjnego, stężenia selektyń i ekspresji L-selektyny między badanymi grupami oraz obserwowane korelacje dowodzą szczególnego znaczenia obturacyjnego bezdechu sennego umiarkowanego jako momentu przełomowego w nasileniu zaburzeń wybranych parametrów biochemicznych. Kolejny stopień ciężkości (OBS-3) charakteryzował się szczególnym wpływem patologii oddychania na stężenie E-selektyny oraz produktów peroksydacji lipidów.

5.4. Zagadnienia związane z sugestiami dotyczącymi klasyfikacji obturacyjnego bezdechu sennego

W trakcie analizy wyników zwrócono uwagę na duży rozrzut stężeń E-selektyny, P-selektyny, TBARS oraz ekspresji genu L-selektyny w grupie OBS-3. Z uwagi na ten fakt przeprowadzono podział grupy pacjentów OBS-3 na dwie podgrupy: 3A z AHI 31 – 50 oraz podgrupy 3B z AHI powyżej 51, choć liczebność każdej z podgrup okazała się stosunkowo niewielka. Dokonano charakterystyki porównawczej parametrów istotnych obu podgrup, analogicznie jak w przypadku podstawowych grup badanych. Analiza porównawcza wykazała brak różnic dla podstawowych istotnych parametrów. W podgrupie OBS-3B określonej jako bezdech bardzo ciężki w porównaniu z podgrupą OBS-3A określoną jako bezdech ciężki, zaobserwowano – co istotne – obniżoną średnią SaO_2 podczas snu oraz udział czasu SaO_2 poniżej 90%. W grupie cięższych pacjentów wyraźnie widoczne były gorsze parametry jakości snu. Stwierdzono istotnie statystycznie zwiększony obwód szyi. W zakresie określanych stężeń w surowicy potwierdzono – porównując podgrupę OBS-3B w stosunku do OBS-3A – zwiększone stężenia E-selektyny, P-selektyny oraz TBARS.

Spostrzeżenie to – potwierdzające istotne „odbicie metaboliczne” – może stać się asumptem do rozważenia modyfikacji klasyfikacji OBS. Obecnie obowiązująca klasyfikacja dzieląca OBS na łagodny, umiarkowany i ciężki, wynikająca z aspektów klinicznych, powinna być rozpatrywana w kon-

tekście wydzielenia wśród grupy pacjentów z OBS postaci ciężkiej (AHI: 31–50) oraz bardzo ciężkiej (przy AHI > 50), z racji istotnych statystycznie różnic parametrów metabolicznych związanych z wynikami badań wybranych cząsteczek adhezyjnych oraz wykładników stresu oksydacyjnego. Wymaga to prowadzenia dalszych badań potwierdzających takie podejrzenie i sugestie.

Na analizę wykładników patologii wpływających na rozwój powikłań w OBS w znaczącym stopniu wpływają zmienne, jakimi są: otyłość, zaburzenia gospodarki węglowodanowej, stosowane leki, choroby sercowo-naczyniowe. Powoduje to utrudnienia w określeniu i interpretacji znaczenia niezależnych czynników ryzyka związanych z mechanizmami pośrednimi poddawanych badaniom w rozwiązywaniu zależności między obturacyjnym bezdechem sennym a jego pochodnymi. Implikuje to konieczność prowadzenia dalszych badań z uwzględnieniem chorób współistniejących u pacjentów z OBS, a także identyfikację markerów zapalenia w uwzględnianiu ryzyka sercowo-naczyniowego i metabolicznego związanego z rozwojem OBS.

Ogromnego wysiłku wymaga stworzenie grup przydatnych dla uzyskania rozstrzygnięć, na ile stwierdzane patologie wynikają z istoty OBS, a na ile związane są ze schorzeniami wynikającymi z otyłości – *obesity related disorders*.

Wymagane jest także – co wydaje się sprawą niezwykle istotną – określenie wpływu terapii CPAP na mechanizmy zapalne i metaboliczne. Ocena zmian badanych parametrów podczas terapii przy użyciu protez powietrznych staje się najlepszym asumptem do ukazania ich faktycznego wpływu na patologie związane z OBS. Stałoby się to ponadto weryfikacją kliniczną terapii CPAP w kontekście patologii metabolicznej.

Będzie to jednak związane z olbrzymim nakładem pracy dla uzyskania wiarygodnych wyników badań, gdyż niezwykle pracochłonny – w tym czasochłonny – jest aspekt prowadzonych badań w laboratoriach snu na całym świecie: wymaga prowadzenia żmudnych badań polisomnograficznych i wnikliwej oceny klinicznej, a także wzięcia pod uwagę wszelkich – bardzo różnorodnych – uwarunkowań.

6. Wnioski

1. U chorych z obturacyjnym bezdechem sennym zwiększające się stężenia badanych selektyn oraz zmiany parametrów stresu oksydacyjnego potwierdzają udział tych związków w patobiochemii schorzenia.
2. Nasilenie zaburzeń badanych mechanizmów pośrednich wzrasta wraz ze stopniem ciężkości zaburzeń oddychania w czasie snu.
3. Przeprowadzone badania dowodzą szczególnego znaczenia umiarkowanego stopnia obturacyjnego bezdechu sennego jako przełomowego w nasileniu zmian wybranych parametrów biochemicznych.
4. W stworzonym modelu badawczym nasilenie peroksydacji lipidów, będące wykładnikiem stresu oksydacyjnego, jest uwarunkowane głównie patologią obturacyjnego bezdechu sennego i może być czynnikiem predykcyjnym wczesnych etapów dysfunkcji śródbrzońka.
5. W łagodnej postaci obturacyjnego bezdechu sennego nasilenie wykładników stresu oksydacyjnego modyfikowane jest tradycyjnymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego.
6. Konieczne wydaje się prowadzenie dalszych badań stężeń selektyn i ekspresji genów dla selektyn oraz wykładników stresu oksydacyjnego u chorych na obturacyjny bezdech senny z oceną wpływu leczenia przy użyciu aparatów do stałego dodatniego ciśnienia, co pozwoli na dalszą weryfikację udziału badanych parametrów w przebiegu schorzenia.
7. Na podstawie stwierdzenia znaczącego zróżnicowania w zakresie badanych parametrów w grupie pacjentów z ciężkim obturacyjnym bezdechem sennym sugeruje się konieczność modyfikacji klasyfikacji z wyróżnieniem grupy pacjentów o największym stopniu zaburzeń – jako OBS bardzo ciężki.

7. Piśmiennictwo

1. Akashiba T., Akahoshi T., Kawahara S., Majima T., Horie T.: Effects of long-term nasal continuous positive airway pressure on C-reactive protein in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Intern. Med.* 2005; 44: 899–900.
2. Albelda S.M., Smith C.W., Ward P.A.: Adhesion molecules and inflammatory injury. *FASEB J.* 1994; 8: 504–512.
3. Alon R., Kassner P.D., Carr M.W., Finger E.B., Hemler M.E., Springer T.A.: The integrin VLA-4 supports tethering and rolling in flow on VCAM-1. *J. Cell. Biol.* 1995; 128: 1243–1253.
4. Alonso-Fernandez A., Garcia-Rio F., Arias M.A., Hernanz A., de la Pena M., Pierola J., Barcelo A., Lopez-Collazo E., Agusti A.: Effects of CPAP on oxidative stress and nitrate efficiency in sleep apnoea: a randomised trial. *Thorax* 2009; 64: 581–586.
5. Alzoghaibi M.A., Bahammam A.S.: Lipid peroxides, superoxide dismutase and circulating IL-8 and GCP-2 in patients with severe obstructive sleep apnea: a pilot study. *Sleep Breath* 2005; 9: 119–126.
6. American Academy of Sleep Medicine. International classification of sleep disorders, 2nd ed.: Diagnostic and coding manual. Westchester, Illinois: American Academy of Sleep Medicine 2005.
7. American Academy of Sleep Medicine. Sleep-related breathing disorders in adults: recommendations for syndrome definition and measurement techniques in clinical research: the report of an American Academy of Sleep Medicine Task Force. *Sleep* 1999; 22: 667–689.
8. American Diabetes Association: Standards of medical care in diabetes – 2012. *Diabetes Care.* 2012; 35: S11–S63.
9. American Diabetes Association: Standards of medical care in diabetes – 2013. *Diabetes Care.* 2013; 36: S11–S66.
10. Arnardottir E.S., Mackiewicz M., Gislason T., Teff K.L., Pack A.I.: Molecular signatures of obstructive sleep apnea in adults: a review and perspective. *Sleep* 2009; 32: 447–470.
11. Artz M., Young T., Finn L., Skatrud J.B., Bradley T.D.: Association of sleep-disordered breathing and the occurrence of stroke. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2005; 172: 1447–1451.

12. Barcelo A., Barbe F., de la Pena M., Vila M., Perez G., Pierola J., Duran J., Agusti A.G.: Antioxidant status in patients with sleep apnoea and impact of continuous positive airway pressure treatment. *Eur. Respir. J.* 2006; 27: 756–760.
13. Barcelo A., Miralles C., Barbe F., Vila M., Pons S., Agusti A.G.: Abnormal lipid peroxidation in patients with sleep apnoea. *Eur. Respir. J.* 2000; 16: 644–647.
14. Bartosz G.: *Druga twarz tlenu*. PWN, Warszawa 2008.
15. Bearpark H., Elliot L., Grunstein R., Cullen S., Schneider H., Althaus W., Sullivan C.: Snoring and sleep apnea. A population study in australian men. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995; 151: 1459–1465.
16. Berlin C., Bargatze R.F., Campell J.J.: Alpha 4 integrins mediate lymphocyte attachment and rolling under physiologic flow. *Cell.* 1995; 80: 413–422.
17. Berry R.B., Budhiraja R., Gottlieb D.J., Gozal D., Iber C., Kapur V.K., Marcus C.L., Mehra R., Parthasarathy S., Quan S.F., Redline S., Strohl K.P., Davidson Ward S.L., Tangredi M.M.: Rules for Scoring Respiratory Events in Sleep: Update of the 2007 AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events Deliberations of the Sleep Apnea Definitions Task Force of the American Academy of Sleep Medicine. *Journal of Clinical Sleep Medicine* 2012; 8: 597–619.
18. Bixler E.O., Vgontzas A.N., Lin H.M., Ten Have T., Rein J., Vela-Bueno A., Kales A.: Prevalence of sleep-disordered breathing in women. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001; 163: 608–613.
19. Bixler E.O., Vgontzas A.N., Ten Have T., Tyson K., Kales A.: Effects of age on sleep apnea in men. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998; 157: 144–148.
20. Blake G.J., Ridker P.M.: C-reactive protein and other inflammatory risk markers in acute coronary syndromes. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2003; 41: 37S–42S.
21. Blankenberg S., Rupprecht H.J., Bickel C., Peetz D., Hafner G., Tiret L., Meyer J.: Circulating cell adhesion molecules and death in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001; 104: 1336–1342.
22. Bonsignore M.R., Zito A.: Metabolic effects of the obstructive sleep apnea syndrome and cardiovascular risk. *Arch. Physiol. Biochem.* 2008; 114: 255–260.
23. Borbely A.: *Tajemnice snu*. PWN, Warszawa 1990.
24. Botros N., Concato J., Mohsenin V., Selim B., Doctor K., Yaggi H.K.: Obstructive sleep apnea as a risk factor for type 2 diabetes. *Am. J. Med.* 2009; 122:1122–1127.

25. Bravo Mde.L., Serpero L.D., Barcelo A., Barbe F., Agusti A., Gozal D.: Inflammatory proteins in patients with obstructive sleep apnea with and without daytime sleepiness. *Sleep Breath* 2007; 11: 177–185.
26. Browman C.P., Sampson M.G., Yolles S.F., Gujavarty K.S., Weiler S.J., Walsleben J.A., Hahn P.M., Mitler M.M.: Obstructive sleep apnea and body weight. *Chest* 1984; 85: 435–438.
27. Can M., Acikgoz S., Mungan G., Bayraktaroglu T., Kocak E., Guven B., Demirtas S.: Serum cardiovascular risk factors in obstructive sleep apnea. *Chest* 2006; 129: 233–237.
28. Carpagnano G.E., Kharitonov S.A., Resta O., Foschino-Barbaro M.P., Gramiccioni E., Barnes P.J.: Increased 8-isoprostane and interleukin-6 in breath condensate of obstructive sleep apnea patients. *Chest* 2002; 122: 1162–1167.
29. Carpagnano G.E., Kharitonov S.A., Resta O., Foschino-Barbaro M.P., Gramiccioni E., Barnes P.J.: 8-Isoprostane, a marker of oxidative stress, is increased in exhaled breath condensate of patients with obstructive sleep apnea after night and is reduced by continuous positive airway pressure therapy. *Chest* 2003; 124: 1386–1392.
30. Chao C.C., Jensen R., Dailey M.O.: Mechanisms of L-selectin regulation by activated T cells. *J. Immunol.* 1997; 159: 1686–1694.
31. Chesson A.L., Berry R.B., Pack A.: American Academy of Sleep Medicine; American Thoracic Society; American College of Chest Physicians: Practice parameters for the use of portable monitoring devices in the investigation of suspected obstructive sleep apnea in adults. *Sleep* 2003; 26: 907–913.
32. Chin K., Kita H., Noguchi T., Otsuka N., Tsuboi T., Nakamura T., Shimizu K., Mishima M., Ohi M.: Improvement of factor VII clotting activity following long-term NCPAP treatment in obstructive sleep apnoea syndrome. *Q. J. Med.* 1998; 91: 627–633.
33. Chin K., Nakamura T., Shimizu K., Mishima M., Miyasaka M., Ohi M.: Effects of nasal continuous positive airway pressure on soluble cell adhesion molecules in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Am. J. Med.* 2000; 109: 562–567.
34. Chin K., Ohi M., Kita H., Noguchi T., Otsuka N., Tsuboi T., Mishima M., Kuno K.: Effects of NCPAP therapy on fibrinogen levels in obstructive sleep apnea syndrome. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1996; 153: 1972–1976.
35. Chomczyński P., Sacchi N.: Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* 1987; 162: 156–159.

36. Christou K., Moulas A.N., Pastaka C., Gourgoulianis K.I.: Antioxidant capacity in obstructive sleep apnea patients. *Sleep Med.* 2003; 4: 225–228.
37. Ciechanowski K.: O wolnych rodnikach w medycynie. *Pol. Tyg. Lek.* 1987; 42: 939–941.
38. Clarenbach C.F., West S.D., Kohler M.: Is obstructive sleep apnea a risk factor for diabetes? *Discov. Med.* 2011; 12: 17–24.
39. Cofta S., Rzymkowska M., Kosicka T., Skołuda A., Młynarczyk W., Głuszek J.: Przypadek zespołu bezdechu sennego typu obturacyjnego z ryzykiem nagłego zgonu leczony skutecznie oddychaniem pod stałym dodatnim ciśnieniem. *Now. Lek.* 1995; 64, 14–20.
40. Cofta S., Wysocka E., Dzięgielewska-Gęsiak S., Michalak S., Piorunek T., Batura-Gabryel H., Torliński L.: Plasma selectins in patients with obstructive sleep apnea. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2013; 756, 113–119.
41. Cofta S., Wysocka E., Michalak S., Piorunek T., Batura-Gabryel H., Torliński L.: Endothelium-derived markers and antioxidant status in the blood on obstructive sleep apnea males. *Eur. J. Med. Res.* 2009; 14, suppl. 4, 49–52.
42. Cofta S., Wysocka E., Piorunek T., Rzymkowska M., Batura-Gabryel H., Torliński L.: Oxidative stress markers in the blood of persons with different stages of obstructive sleep apnea syndrome. *J. Physiol. Pharmacol.* 2008; 59, suppl. 6, 183–190.
43. Cofta S.: Zespół bezdechu śródseennego, w: *Kompendium pulmonologiczne*. H. Batura-Gabryel, red. Poznań 2013: 315–324.
44. Cooney M.T., Dudina A., De Bacquer D., Wilhelmsen L., Sans S., Menotti A., De Backer G., Jousilahti P., Keil U., Thomsen T., Whincup P., Graham I.M.: HDL cholesterol protects against cardiovascular disease in both genders at all ages and at all levels of risk. *Atherosclerosis* 2009; 206: 611–616.
45. Corsonello A., Malara A., Ientile R., Corica F.: Leptin enhances adenosine diphosphate-induced platelet aggregation in healthy subjects. *Obesity Res.* 2002; 10: 306.
46. Coughlin S.R., Mawdsley L., Mugarza J.A., Wilding J.P., Calverley P.M.: Cardiovascular and metabolic effects of CPAP in obese males with OSA. *Eur. Respir. J.* 2007; 29: 720–727.
47. Croce K., Libby P.: Intertwining of thrombosis and inflammation in atherosclerosis. *Curr. Opin. Hematol.* 2007; 14: 55–61.
48. Danesh J., Wheeler J.G., Hirschfield G.M., Eda S., Eiriksdottir G., Rumley A., Lowe G.D., Pepys M.B., Gudnason V.: C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350: 1387–1397.

49. Dart R.A., Gregoire J.R., Gutterman D.D., Woolf S.H.: The association of hypertension and secondary cardiovascular disease with sleep disordered breathing. *Chest* 2003; 123: 244–260.
50. Doherty L.S., Kiely J.L., Swan V., McNicholas W.T.: Long-term effects of nasal continuous positive airway pressure therapy on cardiovascular outcomes in sleep apnea syndrome. *Chest* 2005; 127: 2076–2084.
51. Dyugovskaya L., Lavie P., Hirsh M., Lavie L.: Activated CD8+ T-lymphocytes in obstructive sleep apnoea. *Eur. Respir. J.* 2005; 25: 820–828.
52. Dyugovskaya L., Lavie P., Lavie L.: Increased adhesion molecules expression and production of reactive oxygen species in leukocytes of sleep apnea patients. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002; 165: 934–939.
53. Dyugovskaya L., Lavie P., Lavie L.: Lymphocyte activation as a possible measure of atherosclerotic risk in patients with sleep apnea. *Ann. NY Acad. Sci.* 2005; 1051: 340–350.
54. Dyugovskaya L., Lavie P., Lavie L.: Phenotypic and functional characterization of blood gammadelta T cells in sleep apnea. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003; 168: 242–249.
55. Dyugovskaya L., Polyakov A., Lavie P., Lavie L.: Delayed neutrophil apoptosis in patients with sleep apnea. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2008; 177: 544–554.
56. El-Solh A.A., Mador M.J., Sikka P., Dhillon R.S., Amsterdam D., Grant B.J.: Adhesion molecules in patients with coronary artery disease and moderate-to-severe obstructive sleep apnea. *Chest* 2002; 121: 1541–1547.
57. Engleman H.M., Douglas N.J.: Sleep 4: Sleepiness, cognitive function, and quality of life in obstructive sleep apnoea/hypopnoea syndrome. *Thorax* 2004; 59: 618–622.
58. Faure P., Tamisier R., Baguet J.P., Favier A., Halimi S., Levy P., Pepin J.L.: Impairment of serum albumin antioxidant properties in obstructive sleep apnoea syndrome. *Eur. Respir. J.* 2008; 31: 1046–1053.
59. Firlik M., Cofta S.: Zespół bezdechu sennego. *Nowiny Lekarskie* 1993; 64: 111–118.
60. Flemons W.W.: Clinical practice. Obstructive sleep apnea. *N. Engl. J. Med.* 2002; 347: 498–504.
61. Flemons W.W., McNicholas W.T.: Clinical prediction of the sleep apnea syndrome. *Sleep Med. Rev.* 1997; 1: 19–32.
62. Flemons W.W., Whitelaw W.A., Brant R., Remmers J.E.: Likelihood ratios for a sleep apnea clinical prediction rule. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1994; 150: 1279–1285.

63. Galkina E., Ley K.: Vascular adhesion molecules in atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007; 27: 2292–2301.
64. Gami A.S., Somers V.K.: Obstructive sleep apnoea, metabolic syndrome and cardiovascular outcomes. *Eur. Heart J.* 2004; 25: 709–711.
65. Garcia de la Torre N., Rubio M.A., Bordiu E., Cabrerizo L., Aparicio E., Hernandez C., Sanchez-Pernaute A., Diez-Valladares L., Torres A.J., Puente M., Charro A.L.: Effects of weight loss after bariatric surgery for morbid obesity on vascular endothelial growth factor-A, adipocytokines, and insulin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2008; 93: 4276–4281.
66. Garvey J.F., Taylor C.T., McNicholas W.T.: Cardiovascular disease in obstructive sleep apnoea syndrome: the role of intermittent hypoxia and inflammation. *Eur. Respir. J.* 2009; 33: 1195–1205.
67. George C.F., Millar T.W., Kryger M.H.: Sleep apnea and body position during sleep. *Sleep* 1988; 11: 90–99.
68. George C.F.: Standards for polysomnography in Canada. *Can. Med. Assoc. J.* 1996; 12: 1673–1678.
69. Gerszten R.E., Lusinskas F.W., Ding H.T.: Adhesion of memory lymphocytes to vascular cell adhesion molecule-1-transduced human vascular endothelial cells under simulated physiological flow conditions in vitro. *Circ. Res.* 1996; 79: 1205–1215.
70. Gislason T., Almqvist M., Eriksson G., Taube A., Boman G.: Prevalence of sleep apnea syndrome among Swedish men – an epidemiological study. *J. Clin. Epidemiol.* 1988; 41: 571–576.
71. Głównczyńska R., Kukwa W., Opolski G.: Choroby serca – powikłania u chorych na obturacyjny bezdech podczas snu. *Pneumol. Alergol. Pol.* 2007; 75: suppl. 1, 50–56.
72. Griending K.K., Fitzgerald G.A.: Oxidative stress and cardiovascular injury. I. Basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS. *Circulation* 2003; 108:1912–1916.
73. Grigg-Damberger M.M.: The AASM scoring manual four years later. *J. Clin. Sleep Med.* 2012; 8: 323–32.
74. Grote L., Ploch T., Heitmann J., Knack L., Penzel T., Peter J.H.: Sleep-related breathing disorder is an independent risk factor of for systemic hypertension. *Am. J. Crit. Care Med.* 1999; 160: 1875–1882.
75. Gumbinger B.M.: Cell adhesion: the molecular basis of tissue architecture and morphogenesis. *Cell.* 1996; 84: 345–357.

76. Gurubhagavatula I., Maislin G., Pac A.I.: An algorithm to stratify sleep apnea risk in a sleep disorders clinic population. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001; 164: 1904–1909.
77. Harris M., Glozier N., Ratnavadivel R., Grunstein R.R.: Obstructive sleep apnea and depression. *Sleep. Med. Rev.* 2009; 13: 437–444.
78. Hess W.R.: The autonomic nervous system. *Lancet* 1932, December 3, 1199.
79. Hillis G.S., MacLeod A.M.: Integrins and disease. *Clin. Science* 1996; 91: 639–650.
80. Htoo A.K., Greenberg H., Tongia S., Chen G., Henderson T., Wilson D., Liu SF.: Activation of nuclear factor kappaB in obstructive sleep apnea: a pathway leading to systemic inflammation. *Sleep Breath* 2006; 10: 43–50.
81. Hug J., Whitford E.G., Parsons R.W., Hillman D.R.: Association of sleep apnoea with myocardial infarction in men. *Lancet* 1990; 336: 261–264.
82. Hwang S.J., Ballantyne C.M., Sharrett A.R., Smith L.C., Davis C.E., Gotto A.M., Boerwinkle E.: Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Circulation* 1997; 96: 4219–4225.
83. Iber C., Ancoli-Israel S., Chesson A.L., Quan S.F., for the American Academy of Sleep Medicine: The AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events: Rules, Terminology and Technical Specifications. American Academy of Sleep Medicine, Westchester, IL, 2007.
84. Jennum P., Riha R.L.: Epidemiology of sleep apnoea/hypopnoea syndrome and sleep-disordered breathing. *Eur. Respir. J.* 2009; 33: 907–914.
85. Johns M.W.: A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth Sleepiness Scale. *Sleep* 1991; 14: 540–545.
86. Johns M.W.: Daytime sleepiness, snoring and obstructive sleep apnea. The Epworth Sleepiness Scale. *Chest* 1993; 103: 30–36.
87. Johns M.W.: Reliability and factor analysis of the Epworth Sleepiness Scale. *Sleep* 1992; 15: 376–381.
88. Jurado-Gamez B., Fernandez-Marin M.C., Gomez-Chaparro J.L., Munoz-Cabrera L., Lopez-Barea J., Perez-Jimenez F., Lopez-Miranda J.: Relationship of oxidative stress and endothelial dysfunction in sleep apnoea. *Eur. Respir. J.* 2011; 37: 873–879.
89. Kaneko Y., Floras J.S., Usui K., Plante J., Tkacova R., Kubo T., Ando S., Bradley T.D.: Cardiovascular effects of continuous positive airway pressure

- in patients with heart failure and obstructive sleep apnea. *N. Engl. J. Med.* 2003; 348: 1233–1241.
90. Ke J.J., Shao Q.S., Ling Z.Q.: Expression of E-selectin, integrin beta1 and immunoglobulin superfamily member in human gastric carcinoma cells and its clinicopathologic significance. *World J. Gastroenterol.* 2006; 12: 3609–3611.
 91. Kent B.D., Ryan S., McNicholas W.T.: Obstructive sleep apnea and inflammation: Relationship to cardiovascularco-morbidity. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2011; 78: 475– 481.
 92. Kirbas G., Abakay A., Topcu F., Kaplan A., Unlü M., Peker Y: Obstructive sleep apnoea, cigarette smoking and serum testosterone levels in a male sleep clinic cohort. *J. Int. Med. Res.* 2007; 35: 38–45.
 93. Koenig J.S., Thach B.T.: Effects of mass loading on the upper airway. *J. Appl. Physiol.* 1988; 64: 2294–2299.
 94. Kohler M., Ayers L., Pepperell J.C., Packwood K.L., Ferry B., Crosthwaite N., Craig S., Siccoli M.M., Davies R.J., Stradling J.R.: Effects of continuous positive airway pressure on systemic inflammation in patients with moderate to severe obstructive sleep apnoea: a randomised controlled trial. *Thorax* 2009; 64: 67–73.
 95. Kono M., Tatsumi K., Saibara T., Nakamura A., Tanabe N., Takiguchi Y., Kuriyama T.: Obstructive sleep apnea syndrome is associated with some components of metabolic syndrome. *Chest* 2007; 131: 1387–1392.
 96. Kryger M.H.: Sleep apnea: From the needles of Dionysius to continuous positive airway pressure. *Arch. Intern. Med.* 1983; 143: 2301–2303.
 97. Kushida C.A., Chediak A., Berry R.B., Brown L.K., Gozal D., Iber C., Parthasarathy S., Quan S.F., Rowley J.A.: Positive Airway Pressure Titration Task Force; American Academy of Sleep Medicine. Clinical guidelines for the manual titration of positive airway pressure in patients with obstructive sleep apnea. *J. Clin. Sleep Med.* 2008; 15:157–171.
 98. Kushida C.A., Littner M.R., Morgenthaler T., Alessi C.A., Bailey D., Coleman J. Jr, Friedman L., Hirshkowitz M., Kapen S., Kramer M., Lee-Chiong T., Loubé D.L., Owens J., Pancer J.P., Wise M.: Practice parameters for the indications for polysomnography and related procedures: an update for 2005. *Sleep* 2005; 28: 499–521.
 99. Lam J.C., Lam B., Yao T.J., Lai A.Y., Ooi C.G., Tam S., Lam K.S., Ip M.S.: A randomised controlled trial of nasal continuous positive airway pressure on insulin sensitivity in obstructive sleep apnoea. *Eur. Respir. J.* 2010; 35: 138–145.

100. Lavie L., Dyugovskaya L., Lavie P.: Sleep-apnea-related intermittent hypoxia and atherogenesis: adhesion molecules and monocytes/endothelial cells interactions. *Atherosclerosis* 2005; 183: 183–184.
101. Lavie L., Kraiczi H., Hefetz A., Ghandour H., Perelman A., Hedner J., Lavie P.: Plasma vascular endothelial growth factor in sleep apnea syndrome: effects of nasal continuous positive air pressure treatment. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002; 165: 1624–1628.
102. Lavie L., Lavie P.: Molecular mechanisms of cardiovascular disease in OSAHS: the oxidative stress link. *Eur. Respir. J.* 2009; 33: 1467–1484.
103. Lavie L.: Obstructive sleep apnoea syndrome – an oxidative stress disorder. *Sleep Med. Rev.* 2003; 7: 35–51.
104. Lavie L.: Oxidative stress – a unifying paradigm in obstructive sleep apnea and comorbidities. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 2009; 51: 303–312.
105. Lavie L., Palvie P.: Molecular mechanisms of cardiovascular disease in OSAHS: the oxidative stress link. *Eur. Respir. J.* 2009; 33: 1467–1484.
106. Lavie L., Vishnevsky A., Lavie P.: Evidence for lipid peroxidation in obstructive sleep apnea. *Sleep* 2004; 27: 123–128.
107. Lavie P., Ben-Yosef R., Rubin A.E.: Prevalence of sleep apnea syndrome among patients with essential hypertension. *Am. Heart J.* 1984; 108: 373–376.
108. Lavie P., Herer P., Hoffstein V.: Obstructive sleep apnea syndrome as a risk factor for hypertension: population study. *B.M.J.* 2000; 320: 479–482.
109. Levy P., Bonsignore R., Eckel J.: Sleep, sleep-disordered breathing and metabolic consequences. *Eur. Respir. J.* 2009; 34: 243–260.
110. Li J., Bosch-Marce M., Nanayakkara A., Savransky V., Fried S.K., Semenza G.L., Polotsky V.Y.: Altered metabolic responses to intermittent hypoxia in mice with partial deficiency of hypoxia-inducible factor-1a. *Physiol. Genomics* 2006; 25: 450–457.
111. Libby P., Li H.: Vascular cell adhesion molecule-1 and smooth muscle cell activation during atherogenesis. *J. Clin. Invest.* 1993; 92: 538–539.
112. Liczmański A.E.: Toksyczność tlenu. *Post. Biochem.* 1988; 34: 273–310.
113. Lind L.: Circulating markers of inflammation and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2003; 169: 203–214.
114. Logan A.G., Perlikowski S.M., Mente A., Tisler A., Tkacova R., Niroumand M., Leung R.S., Bradley T.D.: High prevalence of unrecognized sleep apnoea in drug-resistant hypertension. *J. Hypertens.* 2001; 19:2271–2277.

115. Lorenzi-Filho G., Genta P.R.: Obstructive Sleep Apnea: Clinical features and Adverse Consequences. W: Essentials of Sleep Medicine. An Approach for Clinical Pulmonology. M.S. Badr, red. Humana Press 2012, 115–128.
116. Lui M.M., Lam J.C., Mak H.K., Xu A., Ooi C., Lam D.C., Mak J.C., Khong P.L., Ip M.S.: C-reactive protein is associated with obstructive sleep apnea independent of visceral obesity. *Chest* 2009; 135: 950–956.
117. Lurie A.: Endothelial dysfunction in adults with obstructive sleep apnea. *Adv. Cardiol.* 2011; 46: 141–169.
118. Lurie A.: Obstructive sleep apnea in adults: epidemiology, clinical presentation and treatment options. *Adv. Cardiol.* 2011; 46: 1–42.
119. Lurie A.: Obstructive sleep apnea in adults: inflammation, oxidative stress and procoagulant thrombotic activity in adults with obstructive sleep apnea. *Adv. Cardiol.* 2011; 46: 45–61.
120. Lusinskas F.W., Kansas G.S., Ding H., Pizcueta P., Schleiffenbaum B.E., Tedder T.F., Gimbrone M.A.: Monocyte rolling, arrest and spreading on IL-4-activated vascular endothelium under flow is mediated via sequential action of L-selectin, beta 1- integrins, and beta 2-integrins. *J. Cell. Biol.* 1994; 125: 1417–1427.
121. Madani M., Madani F.: Epidemiology, pathophysiology and clinical features of obstructive sleep apnea. *Oral Maxillofac. Surg. Clin. North Am.* 2009; 21: 369–375.
122. Malone S., Liu P.P., Holloway R., Rutherford R., Xie A., Bradley T.D.: Obstructive sleep apnoea in patients with dilated cardiomyopathy: effects of continuous positive airway pressure. *Lancet* 1991; 338: 1480–1484.
123. Mansfield D.R., Gollogly N.C., Kaye D.M., Richardson M., Bergin P., Naughton M.T.: Controlled trial of continuous positive airway pressure in obstructive sleep apnea and heart failure. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2004; 169: 361–366.
124. Manukhina E.B., Downey H.F., Mallet R.T.: Role of nitric oxide in cardiovascular adaptation to intermittent hypoxia. *Exp. Biol. Med.* (Maywood) 2006; 231: 343–365.
125. Marin J.M., Carrizo S.J., Vicente E., Agusti A.G.: Long-term cardiovascular outcomes in men with obstructive sleep apnoea-hypopnea with or without treatment with continuous positive airway pressure: an observational study. *Lancet* 2005; 365:1046–1053.
126. Marshall N.S., Wong K.K.H., Liu P.Y., Cullen S.R.J., Knuiaman M.W., Grunstein R.R.: Sleep apnea as an independent risk factor for all-cause mortality: the Busselton Health Study. *Sleep* 2008; 31: 1079–1085.

127. Martinez-Garcia M.A., Galiano-Blancart R., Roman-Sanchez P., Soler-Cataluna J.J., Cabero-Salt L., Salcedo-Maiques E.: Continuous positive airway pressure treatment in sleep apnea prevents new vascular events after ischemic stroke. *Chest* 2005; 128: 2123–2129.
128. McNicholas W.T., Bonsignore M.R. and the Management Committee of EU COST ACTION B26. Sleep apnoea as an independent risk factor for cardiovascular disease: current evidence, basic mechanisms and research priorities. *Eur. Respir. J.* 2007; 29: 156–178.
129. McNicholas W.: Sleep apnoea syndrome. *Breath* 2005; 1: 219–227.
130. Mehra R., Xu F., Babineau D.C., Tracy R.P., Jenny N.S., Patel S.R., Redline S.: Sleep-disordered breathing and prothrombotic biomarkers: cross-sectional results of the Cleveland Family Study. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2010; 182: 826–833.
131. Millman R.P., Redline S., Carlisle C.C., Assaf A.R., Levinson P.D.: Daytime hypertension in obstructive sleep apnea: prevalence and contributing risk factors. *Chest* 1991; 99: 861–866.
132. Minoguchi K., Yokoe T., Tanaka A., Ohta S., Hirano T., Yoshino G., O'Donnell C.P., Adachi M.: Association between lipid peroxidation and inflammation in obstructive sleep apnoea. *Eur. Respir. J.* 2006; 28: 378–385.
133. Minoguchi K., Yokoe T., Tazaki T., Minoguchi H., Oda N., Tanaka A., Yamamoto M., Ohta S., O'Donnell C.P., Adachi M.: Silent brain infarction and platelet activation in obstructive sleep apnea. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2007; 175: 612–617.
134. Moczko J.A., Bręborowicz G.H.: Nie samą biostatystyką.... Ośrodek Wydawnictw Naukowych ICB PAN. Poznań 2010, 107–194.
135. Monaco C., Paleolog E.: Nuclear factor kappa B: a potential therapeutic target in atherosclerosis and thrombosis. *Cardiovasc. Res.* 2004; 61: 671–682.
136. Monasterio C., Vidal S., Duran J., Ferrer M., Carmona C., Barbe F., Mayos M., Gonzales-Mangado N., Juncadella M., Navarro A., Barreira R., Capote F., Mayoralas L.R., Peces-Barba G., Alonso J., Montserrat J.M.: Effectiveness of continuous positive airway pressure in mild sleep apnea – hypopnea syndrome. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001; 164: 939–943.
137. Morgenthaler T.I., Aurora R.N., Brown T., Zak R., Alessi C., Boehlecke B., Chesson A.L. Jr, Friedman L., Kapur V., Maganti R., Owens J., Pancer J., Swick T.J.: Standards of Practice Committee of the AASM; American Academy of Sleep Medicine: Practice parameters for the use of autotitrating continuous positive airway pressure devices for titrating pressures and treating

- adult patients with obstructive sleep apnea syndrome: an update for 2007. An American Academy of Sleep Medicine report. *Sleep* 2008; 1: 141–147.
138. Munro J.M., Cotran R.S.: Biology of disease: the pathogenesis of atherosclerosis: atherogenesis and inflammation. *Lab. Invest.* 1988; 58: 249–261.
139. Nanduri J., Wang N., Yuan G., Khan S.A., Souvannakitti D., Peng Y.J., Kumar G.K., Garcia J.A., Prabhakar N.R.: Intermittent hypoxia degrades HIF-2alpha via calpains resulting in oxidative stress: implications for recurrent apnea-induced morbidities. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2009; 106: 1199–1204.
140. Nanduri J., Yuan G., Kumar G.K., Semenza G.L., Prabhakar N.R.: Transcriptional responses to intermittent hypoxia. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2008; 164: 277–281.
141. Nicholls S.J., Tuzcu E.M., Sipahi I., Grasso A.W., Schoenhagen P., Hu T., Wolski K., Crowe T., Desai M.Y., Hazen S.L., Kapadia S.R., Nissen S.E.: Statins, high-density lipoprotein cholesterol, and regression of coronary atherosclerosis. *J.A.M.A.* 2007; 297: 499–508.
142. Nieto F.J., Young T.B., Lind B.K. Shahar E., Samet J.M., Redline S., D'Agostino R.B., Newman A.B., Lebowitz M.D., Pickering T.G.: Association of sleep-disordered breathing, sleep apnea and hypertension in a large community-based study. *Sleep Heart Health Study. J.A.M.A.* 2000; 283: 1829–1836.
143. Norman D., Loredó J.S.: Obstructive sleep apnea in older adults. *Clin. Geriatr. Med.* 2008 Feb; 24: 151–165.
144. O'Brien K.D., McDonald T.O., Chait A., Allen M.D., Alpers C.E.: Neovascular expression of E-selectin, intercellular adhesion molecule-1, and vascular cell adhesion molecule-1 in human atherosclerosis and their relation to intimal leukocyte content. *Circulation* 1996; 93: 672–682.
145. O'Brien L.M., Serpero L.D., Tauman R., Gozal D.: Plasma adhesion molecules in children with sleep-disordered breathing. *Chest* 2006; 129: 947–953.
146. Ohga E., Nagase T., Tomita T., Teramoto S., Matsuse T., Katayama H., Ouchi Y.: Increased levels of circulating ICAM-1, VCAM-1, and L-selectin in obstructive sleep apnea syndrome. *J. Appl. Physiol.* 1999; 87: 10–14.
147. Ohga E., Tomita T., Wada H., Yamamoto H., Nagase T., Ouchi Y.: Effects of obstructive sleep apnea on circulating ICAM-1, IL-8 and MCP-1. *J. Appl. Physiol.* 2003; 94: 179–84.
148. Okhawa H, Ohishi N, Yagi K.: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Annal. Biochem.* 1979; 95: 351–358.

149. Parra O., Arboix A., Bechich S., Garcia-Eroles L., Montserrat J.M., Lopez J.A., Ballester E., Guerra J.M., Sopena J.J.: Time course of sleep related breathing disordered in first-ever stroke or transient ischemic attack. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000; 161: 375–380.
150. Parra O., Arboix A., Montserrat J.M., Quinto L., Bechich S., Garcia-Eroles L.: Sleep-related breathing disorders: impact on mortality of cerebrovascular disease. *Eur. Respir. J.* 2004; 24: 267–272.
151. Pasceri V., Willerson J.T., Yeh E.T.: Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation* 2000; 102: 2165–2168.
152. Peker Y., Carlson J., Hedner J.: Increased incidence of coronary artery disease in sleep apnoea: long-term follow-up. *Eur. Respir. J.* 2006; 28: 596–602.
153. Peker Y., Hedner J., Kraiczi H., Loth S.: Respiratory disturbance index: an independent predictor of mortality in coronary artery disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000; 162: 81–86.
154. Peppard P.E., Young T., Palta M., Dempsey J., Skatrud J.: Longitudinal study of moderate weight change and sleep-disordered breathing. *J.A.M.A.* 2000; 284: 3015–3021.
155. Peppard P.E., Young T., Palta M., Skatrud J.: Prospective study of the association between sleep-disordered breathing and hypertension. *N. Engl. J. Med.* 2000; 342: 1378–1384.
156. Phillips B.G., Kato M., Narkiewicz M., Choe K., Sommers V.K.: Increases in leptin levels, sympathetic drive and weight gain in obstructive sleep apnea. *Am. J. Physiol. Heart and Circulat. Physiol.* 2000; 279: 234–237.
157. Philips C.L., Yang Q., Williams A., Roth M., Yee B.J., Hedner J.A., Berend N., Grunstein R.R.: The effect of short-term withdrawal from continuous positive airway pressure therapy on sympathetic activity and markers of vascular inflammation in subjects with obstructive sleep apnoea. *J. Sleep Res.* 2007; 16: 217–225.
158. Phillipson E.A.: Disorders of ventilation. W: Harrison's Principles of internal medicine. K.J. Isselbacher, red. McGraw-Hill Inc, NewYork 1994: 1234–1240.
159. Planes C., Leroy M., Payet G., Aegerter P., Poucher A., Raffestin B.: Exacerbation of sleep-apnoea related nocturnal blood pressure fluctuations in hypertensive subjects. *Eur. Respir. J.* 2002; 20: 151–157.
160. Pływaczewski R., Bednarek M., Jonczak L., Zieliński J.: Sleep-disordered breathing in a middle-aged and older Polish urban population. *J. Sleep Res.* 2008; 17: 73–81.

161. Pływaczewski R., Brzecka A., Bielicki P., Czajkowska-Malinowska M., Cofta S., Jonczak L., Radliński J., Tażbirek M., Wasilewska J.: Zalecenia Polskiego Towarzystwa Chorób Płuc dotyczące rozpoznawania i leczenia zaburzeń oddychania w czasie snu u dorosłych. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2013; 81: 221–258.
162. Punjabi N.M., Shahar E., Redline S., Gottlieb D.J., Givelber R., Resnick H.E.: Sleep Heart Health Study Investigators. Sleep-disordered breathing, glucose intolerance and insulin resistance: the Sleep Heart Health Study. *Am. J. Epidemiol.* 2004; 160: 521–530.
163. Rainer T.H.: L-selectin in health and disease, *Resuscitation* 2002; 52: 127–141.
164. Randerath W.J., Verbraecken J., Andreas S., Bettge G., Boudewyns A., Hamans E., Jalbert F., Paoli J.R., Sanner B., Smith I., Stuck B.A., Lacassagne L., Marklund M., Maurer J.T., Pepin J.L., Valipour A., Verqse T. and Fietze I.: The European Respiratory Society task force on non-CPAP therapies in sleep apnoea. ERS TASK FORCE REPORT. Non-CPAP therapies in obstructive sleep. *Eur. Respir. J.* 2011; 37: 1000–1028.
165. Rangemark C., Hedner J.A., Carlson J.T., Gleerup G., Winther K.: Platelet function and fibrinolytic activity in hypertensive and normotensive sleep apnea patients. *Sleep* 1995; 18: 188–194.
166. Rechtschaffen A., Kales A.: A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects. UCLA Brain Information Service/ Brain Research Institute. Los Angeles 1968.
167. Reichmuth K.J., Austin D., Skatrud J.B., Young T.: Association of sleep apnea and type II diabetes: a population-based study. *Am. J. Respir. Crit. Care.* 2005; 17: 1590–1595.
168. Reimund E.: The free radical theory of sleep. *Med. Hypotheses* 1994; 43: 231–233.
169. Resta O., Pannacciulli N., Di Gioia G., Stefano A., Barbaro M.P., De Pergola G.: High prevalence of previously unknown subclinical hypothyroidism in obese patients referred to a sleep clinic for sleep disordered breathing. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2004; 14: 248–253.
170. Ridker P.M., Buring J.E., Rifai N.: Soluble P-selectin and the risk of future cardiovascular events. *Circulation* 2001; 103: 491–495.
171. Robinson G.V., Pepperell J.C., Segal H.C., Davies R.J., Stradling J.R.: Circulating cardiovascular risk factors in obstructive sleep apnoea: data from randomised controlled trials. *Thorax* 2004; 59: 777–782.

172. Robinson G.V., Stradling J.R., Davies R.J.: Sleep 6: Obstructive sleep apnoea/hypopnoea syndrome and hypertension. *Thorax* 2004; 59: 1089–1094.
173. Roebuck K.A., Finnegan A.: Regulation of intercellular adhesion molecule-1 (CD54) gene expression. *J. Leukoc. Biol.* 1999; 66: 876–888.
174. Roebuck K.A.: Oxidant stress regulation of IL-8 and ICAM-1 gene expression: differential activation and binding of the transcription factors AP-1 and NF-kappaB. *Int. J. Mol. Med.* 1999; 4: 223–230.
175. Russell T., Duntley S.: Sleep disordered breathing in the elderly. *Am. J. Med.* 2011 Dec; 12: 1123–1126.
176. Ryan S., Mc Nicholas W.T., Taylor C.T.: A critical role for p38 map kinase in NF-kappaB signaling during intermittent hypoxia / reoxygenation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007; 355: 728–733.
177. Ryan S., Nolan G.M., Hannigan E., Cunningham S., Taylor C., McNicholas W.T.: Cardiovascular risk markers in obstructive sleep apnoea syndrome and correlation with obesity. *Thorax* 2007; 62: 509–514.
178. Ryan S., Taylor C.T., Mc Nicholas W.T.: Selective activation of inflammatory pathways by intermittent hypoxia in obstructive sleep apnea syndrome. *Circulation* 2005; 112: 2660–2667.
179. Saletu M., Nosiska D., Kapfhammer G., Lalouschek W., Saletu B., Benesch T., Zeitlhofer J.: Structural and serum surrogate markers of cerebrovascular disease in obstructive sleep apnea (OSA): association of mild OSA with early atherosclerosis. *J. Neurol.* 2006; 253: 746–752.
180. Sateia M.J.: Neuropsychological impairment and quality of life in obstructive sleep apnea. *Clin. Chest Med.* 2003; 24: 249–259.
181. Sawa Y., Sugimoto Y., Ueki T., Ishikawa H., Sato A., Nagato T., Yoshida S.: Effects of TNF-alpha on leukocyte adhesion molecule expressions in cultured human lymphatic endothelium. *J. Histochem. Cytochem.* 2007; 55: 721–733.
182. Sawa Y., Ueki T., Hata M., Iwasawa K., Tsuruga E., Kojima H., Ishikawa H., Yoshida S.: LPS-induced IL-6, IL-8, VCAM-1 and ICAM-1 expression in human lymphatic endothelium. *J. Histochem. Cytochem.* 2008; 56: 97–109.
183. Schlosshan D., Elliott M.W.: Sleep 3: Clinical presentation and diagnosis of the obstructive sleep apnoea hypopnoea syndrome. *Thorax* 2004; 59: 347–352.
184. Schulz R., Mahmoudi S., Hattar K., Sibelius U., Olschewski H., Mayer K., Seeger W., Grimminger F.: Enhanced release of superoxide from polymorphonuclear neutrophils in obstructive sleep apnea. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000; 162: 566–570.

185. Schwab R.J., Gefter W.B., Hoffman E.A., Gupta K.B., Pack A.I.: Dynamic upper airway imaging during respiration in normal subjects and patients with sleep disordered breathing. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1993; 148: 1385–1400.
186. Schwab R.J., Goldberg A.N.: Upper airway assessment – radiographic and other imaging techniques. *Otolaryngol. Clin. North Am.* 1998; 31: 931–968.
187. Schwab R.J., Gupta K.B., Gefter W.B., Hoffman E.A., Pack A.I.: Upper airway soft tissue anatomy in normals and patients with sleep disordered breathing. Significance of the lateral pharyngeal walls. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995; 152: 1673–1689.
188. Seddon M., Looi Y.H., Shah A.M.: Oxidative stress and redox signalling in cardiac hypertrophy and heart failure. *Heart* 2007; 93: 903–907.
189. Shahar E., Whitney C.W., Redline S., Lee E.T., Newman A.B., Javier Nieto F., O'Connor G.T., Boland L.L., Schwartz J.E., Samet J.M.: Sleep-disordered breathing and cardiovascular disease: cross-sectional results of the Sleep Heart Health Study. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001; 163: 19–25.
190. Shamsuzzaman A., Gersh B., Sommers.: Obstructive sleep apnea. Implications for cardiac and vascular disease. *JAMA* 2003; 290: 1906–1914.
191. Sharma S.K., Mishra H.K., Sharma H., Goel A., Sreenivas V., Gulati V., Tahir M.: Obesity, and not obstructive sleep apnea, is responsible for increased serum hs-CRP levels in patients with sleep-disordered breathing in Delhi. *Sleep Med.* 2008; 9: 149–156.
192. Shepard J.W.Jr., Thawley S.E.: Evaluation of the upper airway by computerized tomography in patients undergoing uvulopalatopharyngoplasty for obstructive sleep apnea. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1989; 140: 711–716.
193. Shoelson S.E., Lee J., Goldfine A.B.: Inflammation and insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 2006; 116: 1793–1801.
194. Silber M.H., Ancoli-Israel S., Bonnet M.H., Chokroverty S., Grigg-Damberger M.M., Hirshkowitz M., Kapen S., Keenan S.A., Kryger M.H., Penzel T., Pressman M.R., Iber C.: The visual scoring of sleep in adults. *Clin. Sleep Med.* 2007; 3: 121–131.
195. Skomro R.P., Kryger M.H.: Clinical presentations of obstructive sleep apnea syndrome. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 1999; 41: 331–340.
196. Skubitz A.P.: Adhesion molecules. *Cancer Treat. Res.* 2002; 107: 305–329.
197. Somers V.K.: Sleep apnea and cardiovascular disease: an American Heart Association/American College of Cardiology Foundation Scientific Statement from the American Heart Association Council for High Blood Pressure Re-

- search Professional Education Committee, Council on Clinical Cardiology, Stroke Council and Council on Cardiovascular Nursing. *J. Am. Col. Cardiol.* 2008; 52: 686–717.
198. Spiegel K., Tasali E., Leproult R., Van Cauter E.: Effects of poor and short sleep on glucose metabolism and obesity risk. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2009; 5: 253–261.
 199. Stanisz A. Przystępny kurs statystyki w oparciu o program STATISTICA PL na przykładach z medycyny. StatSoft Wydanie 1, 1998, 205.
 200. Steiner S., Jax T., Evers S., Hennersdorf M., Schwalen A., Strauer B.E.: Altered blood rheology in obstructive sleep apnea as a mediator of cardiovascular risk. *Cardiology* 2005; 104: 92–96.
 201. Sullivan C.E., Issa F.G., Berthon-Jones M., Eves L.: Reversal of obstructive sleep apnea by continuous positive airway pressure applied through the nares. *Lancet* 1981; 8225: 862–865.
 202. Svatikova A., Wolk R., Lerman L.O., Juncos L.A., Greene E.L., McConnell J.P., Somers V.K.: Oxidative stress in obstructive sleep apnoea. *Eur. Heart J.* 2005; 26: 2435–2439.
 203. Svatikova A., Wolk R., Magera M.J., Shamsuzzaman A.S., Phillips B.G., Somers V.K.: Plasma homocysteine in obstructive sleep apnoea. *Eur. Heart J.* 2004; 25: 1325–1329.
 204. Svatikova A., Wolk R., Wang H.H., Otto M.E., Bybee K.A., Singh R.J., Somers V.K.: Circulating free nitrotyrosine in obstructive sleep apnea. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2004; 287: 284–287.
 205. Taheri S., Austin D., Lin L., Nieto F.J., Young T., Mignot E.: Correlates of serum C-reactive protein (CRP) – no association with sleep disordered breathing. *Sleep* 2007; 30: 991–996.
 206. Tregear S., Reston J., Schoelles K., Phillips B.: Obstructive sleep apnea and risk of motor vehicle crash: systematic review and meta-analysis. *J. Clin. Sleep Med.* 2009; 15: 573–81.
 207. Tsai J.C.: Neurological and neurobehavioral sequelae of obstructive sleep apnea. *NeuroRehabilitation* 2010; 26: 85–94.
 208. Underhill G.H., Kolli K.P., Kansas G.S.: Complexity within the plasma cell compartment of mice deficient in both E- and P-selectin: implications for plasma cell differentiation. *Blood* 2003; 102: 4076–4083.
 209. Ursavas A., Karadag M., Rodoplu E., Yilmaztepe A., Oral H.B., Gozu R.O.: Circulating ICAM-1 and VCAM-1 levels in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Respiration* 2007; 74: 525–532.

210. Weiss V., Sonka K., Pretl M., Dostálová S., Klozar J., Rambousek P., Marek J., Haas T.: Prevalence of the sleep apnea syndrome in acromegaly population. *J. Endocrinol. Invest.* 2000; 23: 515–519.
211. West S.D., Nicoll D.J., Wallace T.M., Matthews D.R., Stradling J.R.: Effect of CPAP on insulin resistance and HbA1c in men with obstructive sleep apnoea and type 2 diabetes. *Thorax* 2007; 62: 969–974.
212. Winnicki M., Shamsuzzaman A., Lanfranchi P., Accurso V., Olson E., Davison D., Somers V.K.: Erythropoietin and obstructive sleep apnea. *Am. J. Hypertens.* 2004; 17: 783–786.
213. Wysocka E., Cofta S., Cymerys M., Goździk J., Torliński L., Batura-Gabryel H.: The impact of the sleep apnea syndrome on oxidant-antioxidant balance in the blood of overweight and obese patients. *J. Physiol. Pharmacol.* 2008; 59, suppl. 6, 761–769.
214. Wysocka E., Cofta S., Dzięgielewska S., Goździk J., Torliński L., Batura-Gabryel H.: Adipocytokines in sleep apnea syndrome. *Eur. J. Med. Res.* 2009; 14, suppl. 4, 255–258.
215. Wysocka E., Cofta S., Piorunek T., Dzięgielewska-Gęsiak S., Bryl W., Torliński L.: Blood antioxidant status, dysglycemia and obstructive sleep apnea. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2013: 756; 121–129.
216. Valipour A., Litschauer B., Mittermayer F., Rauscher H., Burghuber O.C., Woltz M.: Circulating plasma levels of vascular endothelial growth factor in patients with sleep disordered breathing. *Respir. Med.* 2004; 98: 1180–1186.
217. Von Kanel R., Loredo J.S., Ancoli-Israel S., Dimsdale J.E.: Association between sleep apnea severity and blood coagulability: treatment effects of nasal continuous positive airway pressure. *Sleep Breath* 2006; 10: 139–146.
218. Von Kanel R., Loredo J.S., Ancoli-Israel S., Mills P.J., Dimsdale J.E.: Elevated plasminogen activator inhibitor 1 in sleep apnea and its relation to the metabolic syndrome: an investigation in 2 different study samples. *Metabolism* 2007; 56: 969–976.
219. Von Kanel R., Natarajan L., Ancoli-Israel S., Mills P.J., Loredo J.S., Dimsdale J.E.: Day/night rhythm of hemostatic factors in obstructive sleep apnea. *Sleep* 2010; 33: 371–377.
220. Yaggi H.K., Concato J., Kernan N.W., Lichtman H.J., Brass L.M., Mohsenin V.: Obstructive sleep apnea as a risk factor for stroke and death. *N. Eng. J. Med.* 2005; 19: 2034–2042.
221. Yaggi H., Mohsenin V.: Obstructive sleep apnoea and stroke. *Lancet Neurol.* 2004; 3: 333–342.

222. Yagi, K.: Simple assay for the level of total lipid peroxides in serum or plasma. *Methods Mol. Biol.* 1998; 108: 101–106.
223. Yokoe T., Minoguchi K., Matsuo H., Oda N., Minoguchi H., Yoshino G., Hirano T., Adachi M.: Elevated levels of C-reactive protein and interleukin-6 in patients with obstructive sleep apnea syndrome are decreased by nasal continuous positive airway pressure. *Circulation* 2003; 107: 1129–1134.
224. Young T., Finn L., Peppard P.E., Szklo-Coxe M., Austin D., Nieto F.J., Stubbs R., Hla K.M.: Sleep disordered breathing and mortality: eighteen-year follow-up of the Wisconsin sleep cohort. *Sleep* 2008; 31: 1071–1078.
225. Young T., Palta M., Dempsey J., Peppard P.E., Nieto F.J., Hla K.M.: Burden of sleep apnea: rationale, design, and major findings of the Wisconsin Sleep Cohort study. *W.M.J.* 2009;108: 246–249.
226. Young T., Palta M., Dempsey J., Skatrud J., Weber S., Badr S.: The occurrence of sleep-disordered breathing among middle-aged adults. *N. Engl. J. Med.* 1993; 328: 1230–1235.
227. Young T., Peppard P.E., Gottlieb D.J.: Epidemiology of obstructive sleep apnea. A population health perspective. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002; 165: 1217–1239.
228. Yun C.H., Jung K.H., Chu K., Kim S.H., Ji K.H., Park H.K., Kim H.C., Lee S.T., Lee S.K., Roh J.K.: Increased circulating endothelial microparticles and carotid atherosclerosis in obstructive sleep apnea. *J. Clin. Neurol.* 2010; 6: 89–98.
229. Zalecenia kliniczne dotyczące postępowania u chorych na cukrzycę 2011. Stanowisko Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego. *Diabetologia Praktyczna.* 2011; 12 (suppl.A): A1-A46.
230. Zalecenia kliniczne dotyczące postępowania u chorych na cukrzycę 2013. Stanowisko Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego. *Diabetologia Kliniczna.* 2013; 2 (supl.A).
231. Zamarron C., Ricoy J., Riveiro A., Gude F.: Plasminogen activator inhibitor-1 in obstructive sleep apnea patients with and without hypertension. *Lung* 2008; 186: 151–156.
232. Zamarron-Sanz C., Ricoy-Galbaldon J., Gude-Sampedro F., Riveiro-Riveiro A.: Plasma levels of vascular endothelial markers in obstructive sleep apnea. *Arch. Med. Res.* 2006; 37: 552–555.
233. Zieliński J., Pływaczewski R., Bednarek M.: Zaburzenia oddychania podczas snu. Wydawnictwo Lekarskie, Warszawa 2006.

8. Streszczenie

Obturacyjny bezdech senny (OBS), jako przykład najczęstszego z zaburzeń oddychania w czasie snu, jest związany z wieloma niekorzystnymi następstwami o charakterze zarówno osobistym, jak i społecznym. Jest stanem patologii oddychania podczas snu, polegającym na pojawianiu się nawracających epizodów bezdechów lub słyceń oddychania, związanych z utrudnieniem przepływu powietrza na poziomie gardła, zazwyczaj przy współistnieniu sprzyjających uwarunkowań anatomicznych czy czynnościowych. Towarzyszy mu hipoksemia oraz wybudzenia. OBS jest jednym z czynników ryzyka sercowo-naczyniowego. Dysponujemy wieloma danymi potwierdzającymi wpływ OBS na rozwój i przebieg chorób sercowo-naczyniowych oraz metabolicznych, choć w sytuacji istnienia wielu wspólnych czynników ryzyka poznanie tych zależności jest utrudnione i niepełne.

Obecnie uważa się, że w patogenezie OBS istotne znaczenie mają procesy zapalenia i stresu oksydacyjnego. Rozważana jest także rola czynników prokoagulacyjnych i trombolitycznych. Schorzenie to jest związane z obecnością zwiększonych stężeń wielu spośród mediatorów powyższych stanów patologicznych, których rola jako mechanizmów pośrednich jest sugerowana w patogenezie następstw OBS.

We wprowadzeniu do rozprawy umieszczono zarys zagadnień leżących u podłoża podejmowanej w badaniach tematyki. Przedstawiono uwagi dotyczące selektyn jako przykładu cząsteczek adhezyjnych włączonych w proces zapalenia i wybranych wykładników stresu oksydacyjnego, które – jako jedne z wielu – mogą mieć znaczenie w patologii dokonującej się w OBS.

Motywy do podjęcia przedstawianych badań był nadal niewyjaśniony wpływ ciężkości klinicznej OBS na nasilenie patologii wybranych mechanizmów pośrednich.

Celem pracy było dokonanie oceny wpływu stopnia ciężkości obturacyjnego bezdechu sennego na wybrane wykładniki nasilenia procesów patogenetycznych z uwzględnieniem selektyn oraz stresu oksydacyjnego.

Badanie objęło 100 mężczyzn, w wieku od 34 do 64 lat, zakwalifikowanych do diagnostyki OBS w Pracowni Zaburzeń Oddychania podczas Snu Katedry i Kliniki Pulmonologii, Alergologii i Onkologii Pulmonologicznej w Poznaniu.

Kryterium kwalifikacji do badania było kliniczne podejrzenie OBS. Kryteria wyłączenia stanowiły: przewlekłe choroby zapalne, choroby nowotworowe, przewlekła choroba nerek, przewlekłe choroby wątroby, cukrzyca,

przebyty udar mózgu, przebyty zawał mięśnia sercowego, stwierdzone choroby naczyń obwodowych, niewydolność oddychania i serca. Wykluczono osoby ze świeżo wykrytą cukrzycą oraz stanami przedcukrzycowymi: nieprawidłową glikemią na czczo oraz upośledzoną tolerancją glukozy, a także palących papierosy.

U chorych zakwalifikowanych do badania przeprowadzono ogólną ocenę stanu klinicznego oraz senności diennej przy użyciu skali senności Epworth. Dla określenia zaburzeń oddychania podczas snu wykonano pełną polisomnografię (PSG) za pomocą aparatu klasy 1: EMBLA S4000 – Remlogic z oprogramowaniem Somnologica Studio 5.0. Dokonano analizy manualnej zapisów całonocnego badania weryfikując zapis uzyskany automatycznie.

Na podstawie wyników badania polisomnograficznego wyodrębniono 4 grupy badanych ze względu na wskaźnik bezdechów i spłyceń oddychania (AHI – ang. *apnoea-hypopnoe index*): 1) grupa porównawcza o liczebności 24 osób bez zaburzeń oddychania podczas snu, 2) grupa pacjentów z OBS łagodnym z AHI 5–15 (OBS-1) – 24 osoby, 3) grupa z OBS umiarkowanym z AHI 16–30 (OBS-2) – 24 osoby oraz 4) grupa z OBS ciężkim z AHI powyżej 30 (OBS-3) – 28 osób.

W trakcie pobytu pacjentów w Klinice dokonano także rutynowych oznaczeń we krwi według odpowiednich szpitalnych procedur. Oznaczono wykładniki początkowych etapów aterogenezy – stężenie cząstek adhezyjnych w surowicy, pochodzących ze śródbłonna (E-selektyna), z leukocytów (L-selektyna) i płytek krwi (P-selektyna) – metodami immunoenzymatycznymi (zestawy odczynnikowe ELISA firmy R&DSystems, czytnik mikro-płytek Sunrise™ Tecan).

Zbadano ekspresję genu kodującego L-selektynę w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (PBMC – ang. *peripheral blood mononuclear cells*): izolację całkowitego RNA, syntezę cDNA dzięki reakcji odwrotnej transkrypcji (RT PCR – ang. *reverse transcription PCR*). Następnie określono ekspresję genu kodującego L-selektynę metodą PCR w czasie rzeczywistym z wykorzystaniem sond hydrolizujących typu TaqMan (Roche Diagnostics).

Oznaczono wybrane parametry stresu oksydacyjnego w osoczu: stężenie całkowitego stanu antyoksydacyjnego (TAS – ang. *total antioxidant status*) oraz produktów peroksydacji lipidów (TBARS – ang. *thiobarbituric acid-reacting substances* – substancje reagujące z kwasem tiobarbituranowym) – metodami spektrofotometrycznymi przy użyciu zestawów odczynnikowych.

Analiza statystyczna uzyskanych wyników została przeprowadzona przy użyciu programu Statistica 10.0 (StatSoft Inc., USA). We wszystkich testach jako istotną statystycznie uznano wartość $p < 0,05$. W całej badanej

populacji oraz grupach dla badanych parametrów przeprowadzono weryfikację rozkładu normalnego przy użyciu testu Shapiro-Wilka. Wobec braku potwierdzenia rozkładu normalnego do kolejnych analiz statystycznych zastosowano testy nieparametryczne. Porównanie parametrów między wieloma badanymi grupami wykonywano metodami analizy wariancji testem Kruskala-Wallisa oraz metodą wielokrotnych porównań, *post hoc*, testem Dunna. Dla zbadania istotności różnicy pomiędzy dwoma grupami używano testu U Mann-Whitney'a. Korelacje oceniano w oparciu o przyjęte przez Spearmana wartości krytyczne. Przeprowadzono analizę regresji wielokrotnej.

Porównując grupy pacjentów P, OBS-1, OBS-2 oraz OBS-3 nie stwierdzono różnic w zakresie wieku, obwodu talii, BMI. Ponadto nie stwierdzono różnic dotyczących istotnych parametrów PSG, poza umożliwiającymi podział badanych na grupy badane.

W badaniu związanym z określeniem stężeń selektyn: L, E oraz P w surowicy w poszczególnych grupach obserwowano tendencję wzrostową wraz ze zwiększaniem stopnia nasilenia zaburzeń oddychania. Podobnie badanie związane z określeniem ekspresji genu dla L-selektyny potwierdziło wzrastanie ekspresji w poszczególnych grupach.

W zakresie parametrów stresu oksydacyjnego badanie całkowitego stanu antyoksydacyjnego (TAS) osocza wykazało zmniejszanie stężeń w poszczególnych grupach, badanie określające stężenia produktów peroksydacji lipidów w osoczu (TBARS) potwierdziło ich zwiększanie się wraz z nasileniem się stopnia zaburzeń oddychania.

Przeprowadzono korelacje stężeń selektyn E, P, L, ekspresji genu L-selektyny oraz parametrów stresu oksydacyjnego z badanymi parametrami antropometrycznymi, metabolicznymi oraz uzyskanymi w trakcie badania polisomnograficznego. Ponadto określono wzajemne zależności między kluczowymi parametrami (stężenia selektyn, parametry stresu oksydacyjnego oraz ekspresja genu L-selektyny).

W trakcie analizy wyników zwrócono uwagę na duży rozrzut stężeń E-selektyny, P-selektyny, TBARS oraz ekspresji genu L-selektyny w grupie OBS-3. Z uwagi na ten fakt przeprowadzono podział grupy pacjentów OBS-3 na dwie podgrupy: 3A z AHI 31–50 oraz 3B z AHI powyżej 51, każda o liczebności 14 osób. W zakresie określanych stężeń w surowicy potwierdzono – porównując podgrupę OBS-3B w stosunku do OBS-3A – wzrost stężeń E-selektyny oraz P-selektyny w surowicy oraz TBARS w osoczu.

Następnie omówiono uzyskane wyniki przedstawiając ich interpretację. Dokonano przeglądu badań związanych z poruszonymi aspektami zaburzeń w OBS. Zwrócono uwagę na nowatorskie oznaczenia ekspresji genu dla

L-selektyny, szczegółowe określenie korelacji badanych kluczowych parametrów.

Ważnym elementem rozprawy stało się stworzenie modelu badawczego odwzorowującego różne stopnie nasilenia obturacyjnych zaburzeń oddychania podczas snu w grupach odpowiednich pacjentów pod względem podstawowych cech klinicznych oraz parametrów antropometrycznych.

Przedstawiono wnioski. U chorych z obturacyjnym bezdechem sennym zwiększające się stężenia badanych selektyn oraz zmiany parametrów stresu oksydacyjnego potwierdzają udział tych związków w patobiochemii schorzenia. Nasilenie zaburzeń badanych mechanizmów pośrednich wzrasta wraz ze stopniem ciężkości zaburzeń oddychania w czasie snu.

Przeprowadzone badania dowodzą szczególnego znaczenia umiarkowanego stopnia obturacyjnego bezdechu sennego jako przełomowego w nasileniu zmian wybranych parametrów biochemicznych. W stworzonym modelu badawczym nasilenie peroksydacji lipidów, będące wykładnikiem stresu oksydacyjnego, jest uwarunkowane głównie patologią obturacyjnego bezdechu sennego i może być czynnikiem predykcyjnym wczesnych etapów dysfunkcji śródbłonna. W łagodnej postaci obturacyjnego bezdechu sennego nasilenie wykładników stresu oksydacyjnego modyfikowane jest tradycyjnymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego.

Konieczne wydaje się prowadzenie dalszych badań stężeń selektyn i ekspresji genów dla selektyn oraz wykładników stresu oksydacyjnego u chorych na obturacyjny bezdech senny z oceną wpływu leczenia przy użyciu aparatów do stałego dodatniego ciśnienia, co pozwoli na dalszą weryfikację udziału badanych parametrów w przebiegu schorzenia.

Na podstawie stwierdzenia znaczącego zróżnicowania w zakresie badanych parametrów w grupie pacjentów z ciężkim obturacyjnym bezdechem sennym sugeruje się konieczność modyfikacji klasyfikacji z wyróżnieniem grupy pacjentów o największym stopniu zaburzeń – jako OBS bardzo ciężki.

9. Summary

Obstructive Sleep Apnea (OSA) – the most common breathing sleep disorder – is connected with many personal and social effects. OSA is a condition of breathing pathology during sleep, and is characterized by the recurrent episodes of apneas or hypopneas, caused by upper airway obstruction, usually with coexisting conductive anatomical or functional conditions. OSA is connected with hypoxemia and periods of arousals. OSA is a cardiovascular risk factor. Even though there are many data linking OSA to the development of cardiovascular and metabolic disorders, the assessment of the relationships between them is difficult, because of many shared risk factors.

In recent years, it is postulated that inflammatory processes, oxidative stress, and also possibly pro-coagulative and thrombolytic factors are linked to OSA. Elevated concentrations of the multiple mediators of the above pathologic conditions are associated with OSA. They are suggested as causative agents in complications arising from OSA.

The background information for the subject of this study was outlined in the introduction. This included a review of selectins as the example of adhesion molecules involved in inflammatory process, which – as one of many – can be important in OSA pathology, as well as chosen parameters of oxidative stress.

Currently the relationship between the severity of OSA and levels of selectins and oxidative stress is unknown. The aim of this study was therefore to assess the influence of OSA severity on the pathogenic parameters of selectins and oxidative stress.

100 men, aged 34–64, with a clinical suspicion of OSA, referred for testing in the Sleep Laboratory of Department of Pulmonology, Allergology and Respiratory Oncology, were enrolled into this study. All participants gave informed consent. The study protocol was approved by the institutional Bioethical Committee.

Patients were excluded from the study if they had a history of: chronic heart disease, cancer, chronic kidney disease, chronic liver disease, diabetes mellitus, stroke, heart attack, respiratory failure or heart failure. Patients were also excluded if they were diagnosed with diabetes or pre-diabetic conditions: elevated fasting glycemia or impaired glucose tolerance on admission screening.

The patients admitted to the Sleep Laboratory underwent a physical exam, and their day time sleepiness was estimated by the Epworth Sleepiness Scale. They underwent a full-night monitoring by a polysomnographic system class I: EMBLA S4000-Remlogix with the computer software: Somnologica Studio 5.0. The manual analysis of the full-night's records was done to verify the automatic record.

The study population was divided based on their apnea-hypopnea index (AHI). 24 patients were classified with mild OSA (OSA-1) with an AHI 5–15; 24 patients were classified with moderate OSA (OSA-2) with an AHI 16–30; and 28 patients were classified with severe OSA (OSA-3) with an AHI above 30. Patients with a normal AHI index (24 people) served as the comparative group.

During the hospitalization, routine blood testing was performed. Markers of early stages of atherogenesis – plasma levels of adhesion molecules originating from endothelium (E-selectin), leucocytes (L-selectin) and platelets (P-selectin) were measured using immunoenzymatic methods (ELISA method –R&D systems, and a microplater reader Sunrise TM Tecan).

The estimation of the expression of the L-selectin coding gene in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) was conducted using: total RNA isolation, cDNA synthesis in reverse transcription PCR. The analysis of the L-selectin expression was conducted using PCR method in real time with hydrolyzing probes type TaqMan (Roche Diagnostics).

Plasma parameters of oxidative stress were also measured. These included: Total Antioxidant Status (TAS) and the products of lipid peroxidation in plasma (thiobarbituric acid-reacting substances (TBARS)). The measurements were conducted using spectrophotometric methods.

Statistical calculations were performed using Statistica 10.0 program (StatSoft, USA). In all the tests $p < 0.05$ was taken as an indicator of statistical significance. Shapiro-Wilka's test was used to check the normality of distribution in the whole studied population and in the studied groups of patients. Due to the fact that the normality of distribution was not confirmed, non-parametric test were used in further statistical analysis. The comparison of parameters between many studied groups was conducted with methods of variance analysis – Kruskal-Wallis test and the multiple comparisons method, *post hoc*, Dunn test. U Mann-Whitney test was used to assess the significance of differences between two groups. The correlations were assessed based on the critical values adopted by Spearman.

There were no significant differences in age, waist circumference and BMI between the groups: C, OSA-1, OSA-2 and OSA-3. There were also no other differences in the polysomnographic parameters except for those allowing for severity classification.

The results of the study showed that levels of L, E, and P selectins increased with increases in the severity of sleep disturbances. The increase in the L-selectin gene expression in the studied groups was confirmed.

The study also assessed the relationship between oxidative stress and OAS severity. There was a decrease in total antioxidant status (TAS) and the increase in the concentrations of lipid peroxidation products (TBARS) as the degree of sleep disturbance increased.

The correlation between levels of E selectins, P selectins, L-selectins, L-selectin gene expression, parameters of oxidative stress and anthropometric, metabolic, polysomnographic data was performed. The inter correlations of the key parameters (selectin levels, oxidative stress parameters and L-selectin gene expression) was assessed.

Data analysis revealed large differences in the E-selectin, P-selectin, TBARS and the L-selectin gene expression among members of the OSA-3 group. Due to this fact, OSA-3 group patients were divided into two subgroups, each of 14 patients. Group 3A comprised patients with an AHI 31–50 and 3B with an AHI above 51. The OSA-3B group had higher concentrations of E-selectin, P-selectin in serum and TBARS in plasma compared to OSA-3A group.

Thereafter, the obtained results and their interpretation was presented. Other studies on the relationship between inflammatory markers and OSA were reviewed. Special attention was paid to innovatory estimation of L-selectin gene expression and detailed determination of the studied key parameter's correlations.

An important methodological aspect of this study is the fact that clinical features and anthropometric parameters were similar among patients with differing degrees of OSA.

From these studies we found that patients with OSA have increased concentrations of selectins and parameters of oxidative stress, which suggest the influence of these substances in the disease pathobiochemistry. The increase in the studied mediator mechanism disturbances is correlated with the greater sleep-related breathing disturbances.

The conducted studies prove that moderate OSA is a turning point in the increase of disturbances of the studied biochemical parameters. The severity of lipid peroxidation – which is oxidative stress parameter- is mainly conditioned by the OSA pathology and may be a predictive factor of manifestation of the early stages of endothelial dysfunction. In mild OSA the intensity of parameters of oxydative stress are modified by traditional cardiovascular risk factors.

Further studies of selectin concentrations, L-selectin gene expression and the markers of oxidative stress in patients with OSA are necessary and

should include the effect of CPAP treatment. This would allow further verification of the role of selectins and parameters of oxidative stress in the pathogenesis of OSA.

Since significant differences in levels of selectins and parameters of oxidative stress were found in the patients with severe OSA, we suggest that the OSA classification be modified to create a separate group of patients with the most severe degree of disturbances – a very severe OSA.

10. Spis rycin

Rycina 1.1. Obraz sugerujący ciężkie zaburzenia obturacyjne w zapisie polisomnograficznym.	13
Rycina 1.2. Fragment prawidłowego zapisu polisomnogramu	14
Rycina 1.3. Mężczyzna z ciężką postacią obturacyjnego bezdechu sennego.	15
Rycina 1.4. Sekwencje wpływu czynników pierwotnych na konsekwencje fizjologiczne i kliniczne przy istnieniu czynników predysponujących w OBS.	17
Rycina 1.5. Propozycja powiązań między czynnikami sprawczymi w OBS, mechanizmami pośrednimi i elementami wzmożonego ryzyka chorób sercowo-naczyniowych	21
Rycina 1.6. Sugerowane związki między OBS, zapaleniem, stresem oksydacyjnym, zaburzeniami koagulacyjnymi oraz ryzykiem chorób sercowo-naczyniowych związanych z OBS.	23
Rycina 4.1. Porównanie stężeń L-selektyny w surowicy między badanymi grupami	44
Rycina 4.2. Porównanie stężeń E-selektyny w surowicy między badanymi grupami	45
Rycina 4.3. Porównanie stężeń P-selektyny w surowicy między badanymi grupami	46
Rycina 4.4. Porównanie ekspresji genu L-selektyny (xL-sel) między badanymi grupami	47
Rycina 4.5. Porównanie stężeń TAS w osoczu między badanymi grupami	48
Rycina 4.6. Porównanie stężeń TBARS w osoczu między badanymi grupami	49
Rycina 4.7. Porównanie stężeń E-selektyny w surowicy między badanymi grupami oraz podgrupami	61
Rycina 4.8. Porównanie stężeń TBARS w osoczu między badanymi grupami oraz podgrupami	62

11. Spis tabel

Tabela 1.1.	Uproszczony podział zaburzeń oddychania w czasie snu	9
Tabela 1.2.	Zaburzenia oddychania podczas snu – definicje.	9
Tabela 1.3.	Objawy dzienne i nocne obturacyjnego bezdechu sennego	10
Tabela 1.4.	Kryteria rozpoznawania obturacyjnego bezdechu sennego	11
Tabela 1.5.	Klasyfikacja stopnia ciężkości OBS w zależności od AHI oraz senności dziennej	12
Tabela 1.6.	Strategia terapeutyczna zespołu obturacyjnego bezdechu sennego	16
Tabela 3.1.	Skala senności Epworth	31
Tabela 3.2.	Startery i sondy wykorzystane w reakcji RQ-PCR	36
Tabela 4.1.	Charakterystyka badanych grup oraz ich porównanie	39
Tabela 4.2.	Charakterystyka zapisów parametrów snu w oparciu o badanie polisomnograficzne w badanych grupach oraz ich porównanie	40
Tabela 4.3.	Charakterystyka wyników badań selektywnych i parametrów stresu oksydacyjnego w badanych grupach oraz ich porównanie między grupami	42
Tabela 4.4.	Wybrane korelacje pomiędzy stężeniem E-selektywnych w surowicy a parametrami snu, antropometrycznymi i laboratoryjnymi w badanych grupach	51
Tabela 4.5.	Wybrane korelacje pomiędzy stężeniem P-selektywnych w surowicy a parametrami snu, antropometrycznymi i laboratoryjnymi w grupach	52
Tabela 4.6.	Wybrane korelacje pomiędzy stężeniem L-selektywnych w surowicy a parametrami badanymi snu, antropometrycznymi i laboratoryjnymi w badanych grupach	52
Tabela 4.7.	Wybrane korelacje pomiędzy ekspresją genu L-selektywnych w PBMN a parametrami badanymi snu, antropometrycznymi i laboratoryjnymi w badanych grupach	53
Tabela 4.8.	Wybrane korelacje pomiędzy markerami stresu oksydacyjnego a parametrami snu, antropometrycznymi i laboratoryjnymi w badanych grupach	54
Tabela 4.9.	Korelacje wzajemne kluczowych parametrów w badanych grupach	55
Tabela 4.10.	Porównanie podgrup pacjentów o największym stopniu nasilenia zaburzeń oddychania w czasie snu.	58

Tabela 4.11. Porównanie podgrup pacjentów o największym stopniu nasilenia zaburzeń oddychania w czasie snu – charakterystyka zapisów snu w oparciu o badanie polisomnograficzne	59
Tabela 4.12. Porównanie podgrup pacjentów o największym stopniu nasilenia zaburzeń oddychania w czasie snu w ujęciu wyników badań selektywnych oraz parametrów stresu oksydacyjnego.	60

