

Katedra i Klinika Pulmonologii,  
Alergologii i Onkologii Pulmonologicznej  
UM w Poznaniu

lek. med. Magdalena Kostrzewska

**Ocena wybranych wskaźników procesu  
zapalnego i grubości kompleksu intima -  
- media u pacjentów z obturacyjnym  
bezdechem sennym**

**rozprawa na stopień doktora nauk medycznych**

Promotor:  
prof. dr hab. Halina Batura–Gabryel

Poznań 2014

## Lista stosowanych skrótów i symboli

- AASM** – ang. *American Academy of Sleep Medicine*
- AHI** – ang. *apnea-hypopnoe index*; indeks bezdechów i słyceń oddychania
- ASDA** – ang. *American Sleep Disorders Associaton*
- BMI** - ang. *body mass index*; wskaźnik masy ciała
- CAD** – ang. *coronary artery disease*; choroba niedokrwienna serca
- CCA** – ang. *common carotid artery*; tętnica szyjna wspólna
- CE** – esteraza cholesterolowa
- CO** – oksydaza cholesterolowa
- CPAP** – ang. *continuous positive airway pressure*; metoda oddychania pod stałym dodatnim ciśnieniem
- CVD** – ang. *cardio - vascular disease*; choroby sercowo-naczyniowe
- DBP** – ang. *diastolic blood pressure*; ciśnienie tętnicze rozkurczowe
- ELISA** – ang. *enzyme linked immunosorbent assay*
- FFA** – ang. *free fatty acids*; wolne kwasy tłuszczowe
- G-6-PDH** – dehydrogenaza glukozy-6-fosforanowa
- GK** – kinaza glicerolowa
- GPO** – oksydaza glicerolofosforanowa
- HDL** – ang. *high-density lipoprotein*; lipoproteina o dużej gęstości
- HRP** – ang. *horseradish peroxidase*; peroksydaza chrzanowa
- hsCRP** – ang. *high sensitivity C-Reactive Protein*; białko C-reaktywne wysokiej czułości
- ICA** – ang. *internal carotid artery*; tętnica szyjna wewnętrzna
- ICAM-1** – ang. *intracellular adhesion molekule 1*; cząsteczka adhezji międzykomórkowej-1
- IDL** – ang. *intermediate-density lipoprotein*; lipoproteina o pośredniej gęstości
- IL-6** – Interleukina 6
- IL-1** – Interleukina 1
- IL-10** – Interleukina 10
- KIM** – kompleks intima - media
- LDL** – ang. *low-density lipoprotein*; lipoproteina o małej gęstości
- LPL** – ang. *lipoprotein lipase*; lipaza lipoproteinowa
- MAS** – ang. *mandibular advancement splints*; szyny wysuwające żuchwę

**NHANES III** – ang. *National Health and Nutrition Examination Survey III*

**NREM** – ang. *non-rapid-eye-movements*; stadia snu wolnych ruchów gałek ocznych  
(NREM 1, NREM 2, NREM 3)

**NSD** – nadmierna senność dzienna

**OBS** – obturacyjny bezdech senny

**OSA** – ang. *obstructive sleep apnea*; obturacyjny bezdech senny

**PO** – peroksydaza

**PSG** – polisomnografia

**PTNT** – Polskie Towarzystwo Nadciśnienia Tętniczego

**REM** – ang. *rapid-eye-movements*; faza snu szybkich ruchów gałek ocznych

**SBP** – ang. *systolic blood pressure*; ciśnienie tętnicze skurczowe

**SHHS** – ang. *Sleep Heart Health Study*

**TCHOL** – ang. *total cholesterol*; cholesterol całkowity

**TIR** – Toll IL-1 receptor

**TLR** – ang. *Toll-like receptors*; receptory Toll – podobne

**TNF** – ang. *tumor necrosis factor -  $\alpha$* ; czynnik martwicy guza -  $\alpha$

**VCAM - 1** – ang. *vascular cell adhesion molecule 1*; cząsteczka adhezji  
komórkowej naczyń-1

**VLDL** – ang. *very low density lipoprotein*; lipoproteina o bardzo małej gęstości

**WKT** – wolne kwasy tłuszczowe

# Spis treści

<b>1. WPROWADZENIE .....</b>	<b>7</b>
1.1. Epidemiologia obturacyjnego bezdechu sennego (OBS) .....	8
1.2. Czynniki ryzyka obturacyjnego bezdechu sennego.....	9
1.3. Rozpoznanie i leczenie obturacyjnego bezdechu sennego .....	10
1.4. Wpływ obturacyjnego bezdechu sennego na parametry stanu zapalnego i grubość kompleksu intima – media (KIM) .....	11
1.4.1. Rola białka ostrej fazy i wybranych cytokin zapalnych .....	11
1.4.1.1. Białko C-reaktywne (hsCRP) .....	11
1.4.1.2. Interleukina 1 (IL-1) .....	12
1.4.1.3. Interleukina 6 (IL-6) .....	12
1.4.1.4. Interleukina 10 (IL-10) .....	14
1.4.1.5. Czynniki martwicy guza- $\alpha$ (TNF $\alpha$ ) .....	14
1.4.2. Ocena zależności pomiędzy kompleksem intima - media a zdarzeniami sercowo-naczyniowymi u pacjentów z obturacyjnym bezdechem sennym.....	15
1.4.3. Obturacyjny bezdech senny a wybrane choroby współistniejące .....	15
1.4.3.1. Obturacyjny bezdech senny a nadciśnienie tętnicze .....	15
1.4.3.2. Obturacyjny bezdech senny a choroba wieńcowa serca.....	16
1.4.3.3. Obturacyjny bezdech senny a udar mózgu .....	17
1.4.3.4. Obturacyjny bezdech senny a cukrzyca .....	17
1.4.3.5. Obturacyjny bezdech senny a hiperlipidemia.....	18
<b>2. CEL PRACY .....</b>	<b>19</b>
<b>3. MATERIAŁ I METODY .....</b>	<b>20</b>
3.1. Populacja badana .....	20
3.2. Metody badawcze .....	21
3.2.1. Skala senności Epworth.....	21
3.2.2. Polisomnografia.....	22
3.2.3. Badanie podmiotowe i przedmiotowe .....	24
3.2.4. Pomiar ciśnienia tętniczego krwi.....	24
3.2.5. Pomiar grubości kompleksu intima – media tętnic szyjnych .....	25
3.2.6. Oznaczenie stężenia wskaźników zapalnych w surowicy krwi .....	26
3.2.7. Oznaczenie stężenia parametrów biochemicznych w surowicy krwi .....	28

3.2.7.1.	Oznaczanie parametrów gospodarki lipidowej .....	29
3.2.7.1.1.	Oznaczanie stężenia cholesterolu całkowitego (TCHOL) enzymatycznym testem kolorymetrycznym .....	29
3.2.7.1.2.	Oznaczanie stężenia cholesterolu frakcji HDL (HDL-C) enzymatycznym testem kolorymetrycznym .....	29
3.2.7.1.3.	Oznaczanie stężenia cholesterolu frakcji LDL (LDL-C) bezpośrednim testem enzymatycznym, metodą eliminacji.....	30
3.2.7.1.4.	Oznaczanie stężenia triglicerydów (TAG) enzymatycznym testem kolorymetrycznym .....	31
3.2.7.2.	Oznaczanie stężenia glukozy metodą enzymatyczną .....	31
3.2.7.3.	Oznaczanie stężenia białka C-reaktywnego (hs CRP) .....	32
3.2.8.	Metody statystyczne .....	32
3.2.9.	Krytyka pracy .....	33
<b>4.</b>	<b>WYNIKI .....</b>	<b>35</b>
4.1.	Grupy badane w okresie wstępnej kwalifikacji do projektu badawczego (etap I i etap II) .....	35
4.2.	Charakterystyka grup pacjentów zakwalifikowanych do etapu III .....	36
4.2.1.	Charakterystyka grupy badanej i kontrolnej.....	36
4.2.1.1.	Wiek i parametry antropometryczne .....	36
4.2.1.2.	Wskaźnik masy ciała BMI.....	37
4.2.1.3.	Indeks bezdechów i słyceń oddychania – AHI.....	39
4.2.1.4.	Parametry laboratoryjne .....	40
4.3.	Analiza jednocechowa zmiennych .....	42
4.3.1.	Wartości ciśnienia tętniczego .....	42
4.3.2.	Grubość kompleksu intima – media .....	42
4.3.2.1.	Ocena grubości kompleksu intima – media w tętnicy szyjnej wspólnej prawej (KIM 1) i lewej (KIM 2) w grupie badanej i kontrolnej.....	42
4.3.2.2.	Ocena różnic pomiędzy grubością kompleksu intima – media w tętnicy szyjnej wspólnej prawej (KIM 1) i lewej (KIM 2) w grupie badanej w poszczególnych stopniach zaawansowania obturacyjnego bezdechu sennego .....	44
4.3.3.	Ocena parametrów stanu zapalnego .....	46
4.3.3.1.	Białko C-reaktywne (hs CRP).....	46
4.3.3.2.	Interleukina 1 (IL-1) .....	48
4.3.3.3.	Interleukina 6 (IL-6) .....	49
4.3.3.4.	Interleukina 10 (IL-10) .....	51
4.3.3.5.	Czynnik martwicy guza- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ).....	52
4.3.3.6.	Stężenie glukozy.....	54

4.3.3.7.	Stężenie cholesterolu całkowitego - TCHOL.....	55
4.3.3.8.	Stężenie cholesterolu frakcji HDL (HDL-C) .....	57
4.3.3.9.	Stężenie cholesterolu frakcji LDL (LDL-C) .....	58
4.3.3.10.	Stężenie triglicerydów – TAG .....	60
4.4.	Korelacje w badanych grupach.....	61
4.4.1.	Ocena korelacji pomiędzy wartościami (KIM 1) i (KIM 2) a analizowanymi parametrami.....	61
4.4.2.	Analiza związku pomiędzy parametrami stanu zapalnego a wybranymi zmiennymi: AHI, BMI i wiekiem.....	66
4.5.	Analiza wieloparametryczna .....	70
<b>5.</b>	<b>DYSKUSJA .....</b>	<b>73</b>
5.1.	Wiek.....	73
5.2.	Otyłość.....	74
5.3.	Parametry stanu zapalnego .....	74
5.4.	Kompleks intima – media (KIM) .....	77
5.5.	Parametry gospodarki węglowodanowej i lipidowej.....	80
<b>6.</b>	<b>WNIOSKI.....</b>	<b>82</b>
<b>7.</b>	<b>STRESZCZENIE .....</b>	<b>83</b>
<b>8.</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>87</b>
<b>9.</b>	<b>PIŚMIENNICTWO .....</b>	<b>91</b>
<b>10.</b>	<b>SPIS RYCIN.....</b>	<b>102</b>
<b>11.</b>	<b>SPIS TABEL .....</b>	<b>105</b>
<b>12.</b>	<b>ZAŁĄCZNIKI .....</b>	<b>106</b>

## 1. WPROWADZENIE

Obturacyjny bezdech senny (OBS) jest stanem patologii oddychania w czasie snu, polegającym na pojawieniu się nawracających epizodów bezdechów lub spłyceń oddychania. Towarzyszy mu hipoksemia oraz wybudzenia, prowadzące do zaburzenia architektoniki snu. Istnieją doniesienia o występowaniu objawów choroby u osób, u których nie stwierdza się podczas snu typowych bezdechów, a jedynie spłylenie oddychania spowodowane częściową obturacją drzewa oskrzelowego.

Bezdech definiowany jest jako przerwa w oddychaniu, trwająca co najmniej 10 sekund. Sygnał toru oddychania musi wynosić poniżej 10% referencyjnej amplitudy. Jako spłylenie oddychania (hipowentylację) określa się redukcję przepływu o co najmniej 30%, z desaturacją o co najmniej 4%. Definicja dopuszcza też określenie hipowentylacji jako zdarzenia, w którym upośledzenie przepływu powietrza jest mniejsze niż 50%, ale równocześnie dochodzi do spadku wysycenia krwi tlenem o przynajmniej 4% lub obserwowane są elektroencefalograficzne wybudzenia. Do hipowentylacji kwalifikowane są zdarzenia trwające przynajmniej 10 sekund [1, 2]. Definicja obturacyjnego bezdechu sennego (OBS) została ustanowiona przez American Academy of Sleep Medicine (AASM) w 1999 roku.

W praktyce klinicznej używa się wskaźnika *apnoea/hypopnoe index* (AHI - indeks bezdechów i spłyceń oddychania), który służy nie tylko do rozpoznania OBS, ale również pozwala określić stopień ciężkości choroby. Wskaźnik ten opisuje liczbę zaburzeń oddychania w czasie godziny snu. Warunkiem postawienia diagnozy OBS jest stwierdzenie AHI równego, bądź też większego od 5 na godzinę snu [3].

OBS jest najczęstszą postacią zaburzeń oddychania podczas snu, w których dochodzi do zablokowania przepływu powietrza na poziomie górnych dróg oddechowych, przy zachowanych, a nawet nasilonych ruchach przepony i klatki piersiowej.

Należy zaznaczyć, że AHI jest najważniejszym wskaźnikiem służącym do oceny stopnia ciężkości choroby. Stwierdzenie wartości AHI w przedziale od 5 do 15 na godzinę snu jest równoznaczne z rozpoznaniem postaci łagodnej OBS, AHI pomiędzy 16 a 30, to postać umiarkowana, a AHI powyżej 30 - postać ciężka choroby [3, 4].

## 1.1. Epidemiologia obturacyjnego bezdechu sennego (OBS)

W najczęściej cytowanych badaniach, Wisconsin Sleep Cohort Study, obturacyjny bezdech senny definiowany jako  $AHI \geq 5$  z towarzyszącą nadmierną sennością dzienną (NSD) występował u ponad 4% mężczyzn i niemalże 2% kobiet pomiędzy 30 a 60 rokiem życia [5]. Z nowszych danych epidemiologicznych wynika, iż problem ten jest znacznie częstszy. W Sleep Heart Health Study  $AHI \geq 15$  obserwowano u 18% badanych (25% mężczyzn i 11% kobiet). Istnieją również doniesienia o występowaniu OBS wśród pacjentów, którzy nie wykazują senności dziennej. Na podstawie trzech dużych badań populacyjnych, przeprowadzonych w Wisconsin, Pensylwanii i Hiszpanii, można postawić rozpoznanie OBS u 1 na 5 dorosłych z uwzględnieniem jednego kryterium diagnostycznego ( $AHI \geq 5$ ) [5]. Wyniki tych badań sugerują, że łagodna postać choroby ( $AHI \geq 5$ ) dotyczy co 5, a umiarkowana postać OBS ( $AHI \geq 15$ ) - co 15 dorosłej osoby. W średnim wieku OBS występuje od 2 do 3 razy częściej u mężczyzn niż u kobiet [6]. W starszym wieku częstość występowania choroby jest podobna u obydwu płci [7]. W wieku podeszłym OBS występuje częściej, niż w średnim wieku. W badaniu Sleep Heart Health Study (SHHS),  $AHI \geq 15$  stwierdzono 1,7 razy częściej w grupie wiekowej 60 - 99 lat w porównaniu z badanymi w wieku 40 - 60 lat [8]. W badaniach hiszpańskich  $AHI \geq 15$  stwierdzono 4-krotnie częściej w grupie wiekowej 71 - 100 lat w porównaniu z badanymi od 30 do 70 roku życia [9, 10]. W polskim badaniu epidemiologicznym (676 badanych), OBS ( $AHI > 10$  i skala senności Epworth  $\geq 11$  punktów) rozpoznano u 7,5% badanych. Chorobę stwierdzono prawie 4-krotnie częściej u mężczyzn (11,2%) niż u kobiet (3,4%), a jej ciężkość była podobna u obydwu płci [11]. Wcześniejsze polskie badanie potwierdziło obecność OBS aż u 16,7% mężczyzn i 5,4% kobiet [12]. Z kolei inne duże badanie epidemiologiczne, przeprowadzone w Stanach Zjednoczonych, potwierdziło dodatnią korelację między wiekiem badanych a częstością występowania choroby – badanych powyżej 65 roku życia schorzenie to dotyka trzykrotnie częściej. W analizie tej wykazano również, iż częstość występowania bezdechów wynosi 4% dla kobiet i 13% dla mężczyzn, natomiast obecność chrapania stwierdzono u 19% kobiet i 33% mężczyzn [13].

Istnieją również duże badania epidemiologiczne, w których próbowano oszacować nie tylko częstość występowania OBS, ale również procentowy rozkład pacjentów pomiędzy trzy stopnie ciężkości choroby. Wykazano, iż postać łagodna OBS



dotyczy 17 - 26% mężczyzn i odpowiednio 9 - 28% kobiet. Natomiast ciężka postać schorzenia jest reprezentowana przez 7 - 14% mężczyzn i 2 - 7% kobiet (przy uwzględnieniu założenia ciężkiego stopnia choroby definiowanego jako AHI >15) [5, 14-16]. Szacuje się, iż w Polsce ok. 25 - 30 tysięcy osób powinno być objętych intensywnym leczeniem (w większości przy użyciu protezy powietrznej). O skali problemu może świadczyć również fakt wielu miesięcy oczekiwania na badanie w laboratoriach snu. Na marginesie warto zaznaczyć, że nawykowe chrapanie występuje u około 44% mężczyzn i 28% kobiet powyżej czterdziestego roku życia [5].

## **1.2. Czynniki ryzyka obturacyjnego bezdechu sennego**

Wśród najczęstszych przyczyn występowania OBS należy wymienić: przerost języka, długie podniebienie miękkie oraz języczek, przerost tkanki adenoidalnej gardła, skrzywienie przegrody nosa, nieprawidłowości w anatomicznej budowie twarzoczaszki oraz spadek napięcia mięśni gardła [17]. Czynnikiem ryzyka wystąpienia OBS są także otyłość, płeć męska oraz niektóre zaburzenia hormonalne i genetyczne [18]. Wiele badań epidemiologicznych potwierdza fakt, iż mężczyźni są bardziej narażeni na występowanie OBS. Potwierdzono, iż ryzyko to jest 2 do 3 razy większe niż w populacji kobiet [11].

Kolejnym ważnym czynnikiem etiopatogenetycznym jest otyłość. Peppard wykazał w swojej 10-letniej obserwacji dorosłych pacjentów z OBS dodatnią korelację między nadmierną masą ciała a zmianami wskaźnika AHI [19]. Z kolei Khan i wsp. udowodnili, iż zmiany AHI są funkcją wskaźnika BMI i jest to korelacja silniejsza niż związek AHI z wiekiem badanych [20]. Występujące licznie epizody zapadania się gardła podczas snu powodują wzrost oporu w górnych drogach oddechowych i zmniejszenie lub ustanie przepływu powietrza. W konsekwencji dochodzi do fragmentacji i zmiany jakości snu, rozwoju hipoksemii i hipoksji tkankowej, która jest czynnikiem ryzyka nagłej śmierci i chorób układu sercowo-naczyniowego, obejmujących nadciśnienie tętnicze, chorobę niedokrwienną serca, zaburzenia rytmu serca oraz niedokrwienie mózgu. Wzmocniona senność dzienna zwiększa ryzyko wypadków drogowych, wpływa na pogorszenie jakości życia oraz możliwości uczenia się i zapamiętywania [21, 22].

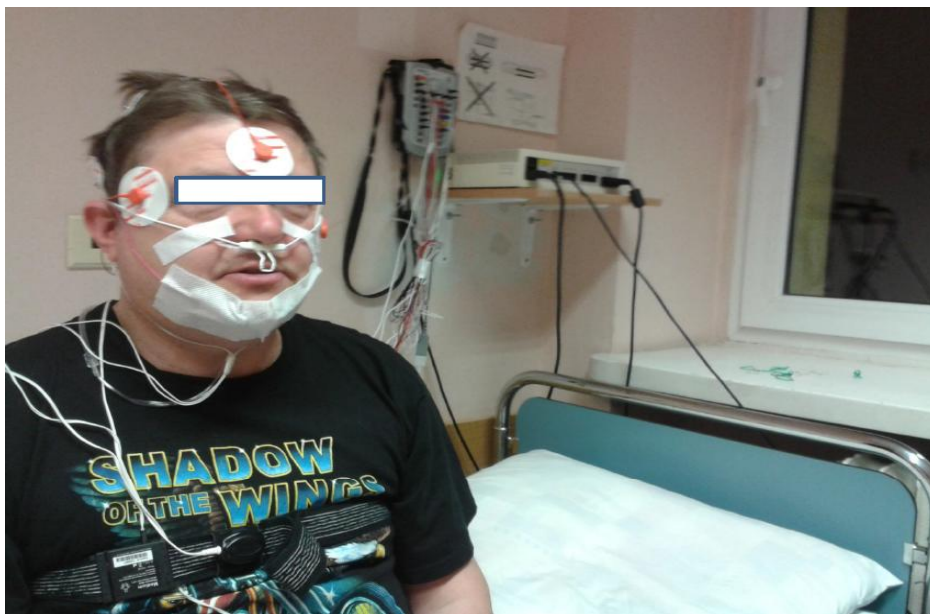
### **1.3. Rozpoznanie i leczenie obturacyjnego bezdechu sennego**

W diagnostyce zaburzeń oddychania w czasie snu, zgodnie z wytycznymi American Sleep Disorders Association (ASDA) (obecnie American Academy of Sleep Medicine – AASM) [71, 72], stosowane są 4 typy urządzeń diagnostycznych:

- 1) Pełna polisomnografia (PSG) wykonywana w Pracowni Snu - stanowi „złoty standard” diagnostyczny [23].
- 2) Polisomnografia przenośna (niedozorowana), która posiada co najmniej 7 kanałów, w tym wszystkie potrzebne do oceny struktury snu i oddychania.
- 3) Badanie wykonywane za pomocą aparatów, które monitorują co najmniej 4 zmienne, w tym wysiłek oddechowy, przepływ powietrza oraz utlenowanie.
- 4) Badanie, które dokonuje pomiaru nie więcej niż 2 zmiennych. Do tej grupy należy pulsoksymetria nocna.

Badania typu 2 - 4 są przeznaczone do diagnostyki ambulatoryjnej [77].

Wybór optymalnego postępowania terapeutycznego powinien być poprzedzony rozpoznaniem przyczyn prowadzących do rozwoju OBS i określeniem stopnia zaawansowania schorzenia. Leczeniem z wyboru w umiarkowanym i ciężkim stopniu OBS jest stosowanie „protezy powietrznej” - aparatu CPAP lub auto - CPAP (ang. continuous positive airway pressure), wytwarzającego stałe lub zmienne dodatnie ciśnienie powietrza w drogach oddechowych. Wskazanie do podjęcia leczenia stanowią także przypadki z łagodną postacią choroby i współistniejącą nadmierną sennością dzienną, zaburzeniami depresyjnymi oraz powikłaniami w układzie sercowo-naczyniowym. Pacjentom z nadwagą, niezależnie od stadium rozwoju choroby, zaleca się redukcję masy ciała [5, 24]. Pozostałe zalecenia obejmują zaprzestanie palenia papierosów, spożywania alkoholu przed snem oraz nieprzyjmowania leków nasennych i uspokajających [25-27].



**Ryc.1.** Mężczyzna z obturacyjnym bezdechem sennym w trakcie badania polisomnograficznego w Klinice Pulmonologii, Alergologii i Onkologii Pulmonologicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

## **1.4. Wpływ obturacyjnego bezdechu sennego na parametry stanu zapalnego i grubość kompleksu intima – media (KIM)**

### **1.4.1. Rola białka ostrej fazy i wybranych cytokin zapalnych**

#### **1.4.1.1. Białko C-reaktywne (hsCRP)**

Należące do pentaksyn białko C-reaktywne (CRP) zostało odkryte w 1930 roku i od tej pory uważane jest za główne białko ostrej fazy. Wzrost stężenia CRP obserwowany jest między innymi u chorych z zawałem mięśnia sercowego, nadciśnieniem tętniczym, otyłością, udarem mózgu, u palaczy tytoniu, u pacjentów po przebytych urazach tkanek, osób z chorobami układowymi tkanki łącznej, w cukrzycy typu 1 i 2, a także w zakażeniach. Początkowo pojawiła się hipoteza, iż CRP jest jedynie wykładnikiem toczącego się w obrębie ustroju stanu zapalnego. Dziś już wiadomo, na podstawie przeprowadzonych badań doświadczalnych, że CRP wywiera bezpośredni wpływ na ścianę naczynia. Pasceri i wsp. wykazali, że CRP pobudza ekspresję molekuł adhezyjnych, takich jak cząsteczka adhezji komórkowej naczyń (VCAM-1, *vascular cell adhesion molecule 1*), cząsteczka adhezji międzykomórkowej (ICAM-1, *intracellular adhesion molecule 1*) i E-selektyna w ścianie naczynia, co pokazuje możliwość bezpośredniego udziału CRP w mechanizmie zapalnym powstawania miażdżycy.

#### **1.4.1.2. Interleukina 1 (IL-1)**

Interleukina 1 (IL-1) – nazwa ta obejmuje całą rodzinę białkowych substancji wpływających na wzrost i proliferację komórek, do której należy co najmniej 10 cząsteczek. IL-1 odgrywa zasadniczą rolę prozapalną w odpowiedzi immunologicznej. Produkowana jest głównie przez monocyty i makrofagi różnych tkanek. Głównym czynnikiem indukującym powstawanie IL-1 jest lipopolisacharyd ścian bakterii, ale także wirusy, drożdże, czynnik martwicy guza- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) oraz sama IL-1. Podobnie jak zidentyfikowano wiele cytokin z rodziny IL-1, znaleziono również 10 receptorów dla tych cząsteczek. Receptory rodziny IL-1 posiadają domeny TIR (Toll IL-1 receptor), które znajdują się w receptorach Toll-podobnych (TLR). Najlepiej opisane są dwa, w 28% homologiczne, receptory dla IL-1: IL-1R1 oraz IL-1R2. Bardzo ważną rolę pełni w organizmie antagonist receptoru dla IL-1 (IL-1Ra), która występuje jako przeciwzapalna proteina konkurencyjnie blokująca receptory IL-1R1 i IL-1R2 - stąd dwukierunkowość działania zapalnego opisywanej cytokiny. Podobnie jak opisywane wcześniej białko ostrej fazy oddziałuje na śródbłonek naczyń, nasilając jego przepuszczalność oraz wzmacnia aktywność czynnika aktywującego płytki (PAF). IL-1 działa również na ośrodkowy układ nerwowy, wpływa na podwzgórze i przysadkę mózgową powodując uwalnianie glikokortykosteroidów oraz powoduje wzrost temperatury ciała. Bierze także udział w syntezie białek ostrej fazy w wątrobie. W kontekście OBS obserwowany jest wzrost fizjologicznie niskiego stężenia tej cytokiny podczas zasypiania. Udowodniono także mechanizm zahamowania spontanicznego snu w czasie podawania inhibitorów IL-1 [28].

#### **1.4.1.3. Interleukina 6 (IL-6)**

Interleukina 6 (IL-6), to glikoproteina należąca do grupy cytokin, zbudowana ze 184 aminokwasów o masie cząsteczkowej 26 kDA. [29]. Wykazuje wielokierunkowe działanie, zarówno pro-, jak i przeciwzapalne, dlatego można ją określić mianem jednego z głównych czynników regulujących mechanizmy obronne organizmu. Najważniejszą rolą IL-6 jest udział w odpowiedzi immunologicznej, krwiotworzeniu i reakcji zapalnej [30, 31]. Cytokina ta, zanim została ostatecznie zidentyfikowana, była określana jako czynnik 2 stymulujący limfocyty B, interferon  $\beta$ 2, czynnik wzrostu komórek hybrydowych oraz jako czynnik wzrostu i różnicowania komórek cytotoksycznych. Stwierdzono również, że IL-6 ma identyczną strukturę, jak czynnik

stymulujący hepatocyty, który indukuje syntezę białek ostrej fazy. Wytwarzana jest głównie przez monocyty i makrofagi oraz - w mniejszym stopniu - przez fibroblasty, komórki śródbłonna, limfocyty T i B, keratynocyty, chondrocyty oraz komórki owodni. Głównymi czynnikami stymulującymi wytwarzanie IL-6 są: IL-1, interferony, czynniki martwicy nowotworu, lipopolisacharydy (LPS) oraz wirusy DNA i RNA [32]. IL-6 jest wielokierunkowo działającą cytokiną, wywierającą różnorodne efekty biologiczne. Działa przede wszystkim na limfocyty B jako czynnik stymulujący ich końcowe różnicowanie się w stosunku do komórek produkujących immunoglobuliny różnych klas. Jest także jedną z cytokin należących do tzw. pozytywnych regulatorów wzrostu, która wraz z czynnikiem stymulującym powstawanie kolonii granulocytarno-makrofagowych, IL-1 i IL-3, indukuje proliferację i różnicowanie komórek krwiotwórczych, a także ich apoptozę [33]. Udział tej prozapalnej cytokiny w różnicowaniu i aktywacji limfocytów cytotoksycznych oraz komórek NK sprawiły, że mechanizm przeciwnowotworowego działania IL-6 próbowano zastosować w terapii nowotworów. Badania Ullmanna i wsp. [34] wykazały, że cytokina ta zwiększa ekspresję antygenu karcyno-embrionalnego na powierzchni komórek raka jelita grubego. W stanach zapalnych stężenie IL-6 w surowicy chorego może się zwiększać nawet 100-krotnie, dlatego uważana jest za wczesny i czuły, ale niespecyficzny wskaźnik toczących się w organizmie reakcji zapalnych. Jest głównym stymulatorem syntezy białek ostrej fazy w wątrobie, zwłaszcza białka CRP. Glikoproteina ta uczestniczy również w regulacji stężenia transferyny, ceruloplazminy i haptoglobiny, wpływając przez to na transport jonów żelaza i miedzi. Udowodniono również pirogenne działanie IL-6, która wraz z IL-1, czynnikiem TNF  $\alpha$  i interferonem może podwyższać temperaturę ciała, stymulując produkcję prostaglandyn. Dane z piśmiennictwa potwierdzają rolę IL-6 w rozwoju niektórych chorób o podłożu zapalnym, infekcyjnym i urazowym [32]. Stężenie IL-6 zwiększa się także w przypadku ciężkich oparzeń, posocznicy i chorób tkanki łącznej. Wskazuje się na możliwość zastosowania tej cytokiny jako markera przydatnego w diagnostyce zakażeń bakteryjnych i posocznicy [35]. W kontekście tematu OBS warto podkreślić opisywany wzrost stężenia IL-6 we śnie REM podczas zasypiania [28]. Należy zwrócić uwagę na fakt, że IL-6 jest jednym z najistotniejszych czynników prozapalnych powstałych w tkance tłuszczowej. Sugeruje się, że wywiera działanie parakryne na tkankę tłuszczową, stymulując produkcję innych niekorzystnych adipocytokin. Istnieje dodatnia korelacja między stężeniem IL-6 a masą ciała. U osób otyłych ze względu na

obecność większej ilości tkanki tłuszczowej dochodzi do zwiększenia syntezy IL-6, która z kolei indukuje syntezę białek ostrej fazy w hepatocytach. Obserwacje te potwierdzono również w badaniu National Health and Nutrition Examination Survey III (NHANES III), przeprowadzonym w Stanach Zjednoczonych w latach 1988-1994 i obejmującym grupę ponad 16 tysięcy osób [36].

#### **1.4.1.4. Interleukina 10 (IL-10)**

Interleukina-10 (IL-10) pełni rolę czynnika hamującego odpowiedź immunologiczną. Hamuje wytwarzanie limfocytów Th1 pobudzonych przez antygen oraz wstrzymuje proces wytwarzania przez nie cytokin zapalnych, takich jak interferon  $\gamma$ , czy IL-2. Współdziałając z innymi cytokinami, IL-10 bierze udział w pozytywnej roli krwiotworzenia. Przeciwwzapalna rola IL-10 sprawia, że w terapii zapalenia stosuje się leki pobudzające jej syntezę. Jednakże zarówno niedobór IL-10, jak i jej nadprodukcja może być szkodliwa dla organizmu [37]. Zwiększone stężenie IL-10 w przypadku niektórych nowotworów blokuje odpowiedź immunologiczną przeciwko komórkom nowotworowym, a nawet może być czynnikiem wzrostu nowotworu. Szereg badań wskazuje na to, że niedobór IL-10 może być jednym z czynników prowadzącym do powstania określonych chorób autoimmunologicznych. Nie odnotowano danych w piśmiennictwie na temat wpływu opisywanej cytokiny na sen [28].

#### **1.4.1.5. Czynn timer martwicy guza- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )**

Czynnik TNF- $\alpha$  (synonimy: TNF, czynnik martwicy guza -  $\alpha$ , ang. *tumor necrosis factor*, kachektyna) jest jedną z głównych cytokin biorących udział w odpowiedzi zapalnej i immunologicznej. Wraz z IL-2 i IL-6 stymuluje powstawanie i różnicowanie limfocytów B, limfocytów T oraz komórek NK. Indukuje również cytotoksyczność monocytów i makrofagów oraz eozynofili w odpowiedzi na inwazję pierwotniaków. Wykazuje dodatkowo właściwości przeciwnowotworowe poprzez bezpośrednie działanie na komórki rakowe, indukowanie zmian w naczyniach krwionośnych nowotworu oraz pobudzanie odpowiedzi immunologicznej przeciw nowotworowi. Receptory dla TNF- $\alpha$  obecne są na wielu komórkach, w związku z powyższym posiada on szereg innych biologicznych właściwości, między innymi stymuluje powstawanie fibroblastów i osteoklastów, angiogenezę oraz powoduje podwyższenie ciepłoty ciała i zwiększoną senność [38].

#### **1.4.2. Ocena zależności pomiędzy kompleksem intima - media a zdarzeniami sercowo-naczyniowymi u pacjentów z obturacyjnym bezdechem sennym**

Liczne prace podkreślają, że pomiar grubości kompleksu błony wewnętrznej i środkowej tętnic szyjnych jest uznaną nieinwazyjną metodą pozwalającą zobrazować wczesne zmiany miażdżycowe. W badaniu kompleksu intima – media tętnic szyjnych, grubość błony wewnętrznej i środkowej opisuje się jako odległość między dwiema strukturami, wyznaczającymi granicę między światłem a błoną zewnętrzną naczynia [39]. Wartości kompleksu między 0,9 mm a 1,5 mm określa się jako pogrubienie kompleksu, wartości powyżej 1,5 mm definiowane są jako blaszka miażdżycowa [40]. Znaczącą rolę odgrywa ocena KIM u osób z nadciśnieniem tętniczym, co pozwala na zobrazowanie wczesnych powikłań narządowych w tej jednostce chorobowej. Polskie Towarzystwo Nadciśnienia Tętniczego (PTNT) zaleca wykonywanie tego badania przy ocenie ryzyka incydentów sercowo-naczyniowych u chorych z nadciśnieniem [41]. W literaturze istnieje szereg badań potwierdzających związek między grubością kompleksu intima – media a częstością zdarzeń sercowo-naczyniowych. W badaniu o akronimie ARIC (Arteriosclerosis Risk in Communities) dokonano oceny grubości kompleksu intima –media u ok.16-tu tysięcy osób w przedziale wiekowym między 45 a 64 rokiem życia. Na podstawie przeprowadzonych pomiarów KIM w badanej populacji, pozostającej w 10-letniej obserwacji, umieszczono KIM w grupie ryzyka incydentów sercowo-naczyniowych [42]. Według przeprowadzonych badań epidemiologicznych, na zwiększone ryzyko powikłań sercowo-naczyniowych wskazuje roczny wzrost grubości KIM  $\geq 0,034$  mm [43].

#### **1.4.3. Obturacyjny bezdech senny a wybrane choroby współistniejące**

##### **1.4.3.1. Obturacyjny bezdech senny a nadciśnienie tętnicze**

Phillips i wsp. potwierdzają, iż u ponad połowy pacjentów ze zdiagnozowanym bezdechem sennym współistnieje nadciśnienie tętnicze [44]. Metaanaliza Laviego dowodzi, iż obturacyjny bezdech senny jest niezależnym czynnikiem rozwoju wtórnego nadciśnienia tętniczego. Wykazał on również, że wraz ze wzrostem stopnia ciężkości OBS wzrasta liniowo liczba pacjentów z nadciśnieniem tętniczym [45].

Istotny związek między obturacyjnym bezdechem sennym a nadciśnieniem tętniczym zanotowano w Wisconsin Sleep Cohort Study Peppard podczas czteroletniej

obserwacji wykazał liniową zależność między stopniem bezdechu a częstością rozwoju nadciśnienia tętniczego. Zwiększone prawdopodobieństwo wystąpienia nadciśnienia potwierdzono także po korekcie uwzględniającej znane czynniki ryzyka, takie jak wiek, płeć, masa ciała, a także wyjściową wartość ciśnienia tętniczego oraz palenie tytoniu i spożycie alkoholu [46].

#### **1.4.3.2. Obturacyjny bezdech senny a choroba wieńcowa serca**

Dane literaturowe dowodzą, iż OBS jest niezależnym czynnikiem ryzyka rozwoju choroby wieńcowej (coronary artery disease, CAD). Na podstawie badania przeprowadzonego pod kierunkiem Pekera stwierdzono, iż u pacjentów ze zdiagnozowanym CAD, OBS występuje istotnie częściej w porównaniu z osobami zdrowymi. [47]. Moee i wsp. udowodnili, że zaburzenia oddychania w czasie snu, poprzez wzrost częstości występowania incydentów sercowo – naczyniowych, są niezależnym czynnikiem pogarszającym długoterminową prognozę dla pacjentów z CAD [48].

Dowiedziano, iż okresowa hipoksja, występująca podczas OBS, z uwagi na wazokonstrykcyjny i prozapalny wpływ na naczynia krwionośne, przyspiesza rozwój zmian aterosklerotycznych. Eijiro i wsp. wykazali u pacjentów z OBS wyraźną ekspresję molekuł adhezyjnych, takich jak: VCAM-1, ICAM-1, czy E selektyna w ścianie naczynia. Proces ten wpływa na adhezję krążących leukocytów do komórek śródbłonna [49, 50]. Jak udowodnił w swojej pracy Luc i wsp., kluczowym czynnikiem aterogenezy jest IL-6 oraz białko CRP [51].

W wielu projektach naukowych badacze zwracają uwagę na znaczącą rolę uszkodzenia śródbłonna w rozwoju zmian miażdżycowych. Utrata naturalnej bariery, jaką stanowi śródbłonek, generuje ekspozycję niżej położonych struktur naczynia na krążące we krwi czynniki wzrostu i mediatory proliferacji komórek. Kolagen, wiążąc czynniki kaskady krzepnięcia, przyczynia się do aktywacji i agregacji płytek krwi, a w końcowej fazie - do formowania skrzepliny [52, 53]. Dane literaturowe potwierdzają tezę, iż OBS wykazuje etiologiczny związek z rozwojem miażdżycy i przyczynia się do progresji choroby niedokrwiennej serca. Większość autorów podkreśla, iż OBS jest czynnikiem pogarszającym prognozę pacjentów z chorobą niedokrwinną, poprzez istotny wpływ na zwiększone ryzyko nagłej śmierci [54, 55]. Warto również zauważyć, że istnieją doniesienia świadczące o braku istotnych różnic w dziesięcioletnim przeżyciu [56].



### **1.4.3.3. Obturacyjny bezdech senny a udar mózgu**

Dane z piśmiennictwa podkreślają silną współzależność pomiędzy OBS a zdarzeniami mózgowo-naczyniowymi [57]. Zarówno OBS może przyczyniać się do zwiększonej częstości udarów, jak i udary mogą generować występowanie zaburzeń oddychania podczas snu. Przyczyną stwierdzanych zaburzeń oddychania może być deficyt neurologiczny spowodowany udarem. Istotną rolę w zmianie wzorca oddechowego, z wystąpieniem oddechu Cheyne'a-Stokesa, odgrywają udary nadnamiotowe. Natomiast udary podnamiotowe częściej przyczyniają się do wystąpienia obturacyjnego lub mieszanego bezdechu we śnie oraz hipowentylacji centralnej [58]. Badacze zwracają uwagę na rolę złożonych mechanizmów wpływu zaburzeń oddychania podczas snu na wzrost ryzyka udarów i epizodów przemijającego niedokrwienia mózgu. Opisuje się znaczenie zmian ciśnienia tętniczego, wystąpienia zaburzeń rytmu serca, wzrostu ciśnienia wewnątrzczaszkowego i upośledzenia przepływu mózgowego. Dodatkową przyczynę mogą stanowić zmiany właściwości reologicznych krwi, odgrywające rolę w uszkodzeniu funkcji śródbłonna. [59, 60].

### **1.4.3.4. Obturacyjny bezdech senny a cukrzyca**

OBS odgrywa dużą rolę w zaburzeniach metabolizmu glukozy. Upośledzenie architektoniki snu, spowodowane licznymi przebudzeniami i hipokseją w następstwie bezdechów, powoduje aktywację układu współczulnego oraz osi podwzgórze-przysadka-kora nadnerczy, co indukuje zwiększone wydzielanie kortyzolu. Powyższe hormony i mediatory wpływają na glikogenolizę, glukoneogenezę, lipolizę i wzrost stężenia wolnych kwasów tłuszczowych, a także wydzielanie glukagonu. W odpowiedzi na te zmiany metaboliczne dochodzi do rozwoju insulinooporności, upośledzenia tolerancji glukozy i cukrzycy. Należy jednak zaznaczyć, iż nadal istnieje zbyt mało badań potwierdzających niezależny wpływ OBS na rozwój cukrzycy [61].

W badaniu SHHS (2656 osób bez cukrzycy) stwierdzono, że zaburzenia oddychania w czasie snu były niezależnym czynnikiem ryzyka hiperglikemii na czczo i upośledzonej tolerancji glukozy. W badaniu WSCS (1387 badanych) cukrzycę stwierdzono u 14,7% badanych z AHI >15 w porównaniu z 2,8% u pacjentów z AHI <5. W czasie czteroletniej obserwacji, ryzyko rozwoju cukrzycy było 1,62 razy wyższe u chorych z AHI >15, w porównaniu z grupą kontrolną [62].

#### 1.4.3.5. Obturacyjny bezdech senny a hiperlipidemia

OBS może być ściśle związany ze zwiększonym ryzykiem rozwoju zaburzeń gospodarki lipidowej, a tym samym chorób miażdżycowych [63, 64]. Jednakże wciąż pozostaje niejasne, w jakim stopniu obecność OBS bezpośrednio przekłada się na możliwość wystąpienia zdarzeń sercowo - naczyniowych (s-n), a w jakim stopniu wpływają na to czynniki współistniejące, w tym otyłość, cukrzyca, zespół metaboliczny, nadciśnienie tętnicze [65].

U patogenetycznych podstaw związku między OBS a dyslipidemią leżą takie zjawiska jak zwiększona lipoliza, obniżony klirens lipoprotein (w wyniku blokowania aktywności lipazy lipoproteinowej) i zwiększony wyrzut lipidów z wątroby. Powtarzające się epizody bezdechów i sypień oddychania w czasie snu doprowadzają do stanu przejściowej hipoksji, dającej początek wielu procesom biochemicznym, umożliwiającym komórkom i tkankom adaptację do stanu niskiej ilości tlenu [66]. Ponadto, przejściowa hipoksja jest także odpowiedzialna za nadmierną aktywację współczulną [67], w wyniku której zwiększa się aktywność lipazy w tkance tłuszczowej, z następczą przemianą triglicerydów (*triglycerides*, TAG) do wolnych kwasów tłuszczowych (WKT, ang. *free fatty acids*, FFA) i glicerolu, stanowiących substrat do wątrobowej produkcji lipoprotein o bardzo małej gęstości (ang. *very low density lipoprotein*, VLDL) [68]. Wykazano, że pacjenci z OBS mają podwyższone stężenie WKT, co może odpowiadać za ich zwiększone ryzyko s-n i metaboliczne [69]. Pod wpływem lipazy lipoproteinowej (LPL) cząsteczki VLDL ulegają przemianie do lipoprotein o pośredniej gęstości (ang. *intermediate-density lipoprotein*, IDL), które następnie mogą albo zostać wychwycone zwrotnie przez wątrobę, albo przejąć cholesterol z lipoprotein o dużej gęstości (ang. *high-density lipoprotein*, HDL) i przekształcić się w cząsteczki lipoprotein o małej gęstości (ang. *low-density lipoprotein*, LDL) [70]. Miażdżycogenna rola LDL-cholesterolu, skutkująca zwiększoną chorobowością i śmiertelnością s-n, jest dobrze udokumentowana [71]. Dodatkowo, OBS może prowadzić do zwiększenia stężenia LDL-cholesterolu i zmniejszenia stężenia HDL-cholesterolu poprzez stymulację receptorów  $\alpha$  – adrenergicznych [72].

W niedawno opublikowanych badaniach autorzy zwracają uwagę na fakt, iż ściśle związany z OBS stres oksydacyjny także może prowadzić do niekorzystnej modyfikacji cząsteczek HDL i tym samym ich dysfunkcji [73].

## **2. CEL PRACY**

Częstym zjawiskiem opisywanym u chorych na OBS jest współistnienie zmian sercowo-naczyniowych i metabolicznych. W interpretacji znaczenia niezależnych czynników wystąpienia tych zjawisk należy zwrócić uwagę na rolę zmiennych, jakimi są: otyłość, zaburzenia gospodarki lipidowej i węglowodanowej, stosowana farmakoterapia oraz choroby układu sercowo-naczyniowego. Szczegółowe mechanizmy patogenetyczne z tym związane są wyjaśnione tylko częściowo. Implikuje to konieczność prowadzenia prac badawczych dotyczących roli parametrów stanu zapalnego w prognozowaniu ryzyka metabolicznego i sercowo-naczyniowego, związanego z rozwojem OBS. Wyżej podane przesłanki przyczyniły się do podjęcia badania, którego wyniki mogą wpłynąć na szybsze i precyzyjne wyselekcjonowanie pacjentów o podwyższonym ryzyku rozwoju incydentów sercowo-naczyniowych, i znaleźć szerokie zastosowanie w praktyce klinicznej.

### **Cele główne pracy**

- 1) Określenie wybranych wskaźników aktywności procesu zapalnego u chorych z OBS.
- 2) Ocena grubości kompleksu intima – media u chorych z OBS.
- 3) Poszukiwanie zależności między stanem zapalnym a zmianami naczyniowymi w odniesieniu do stopnia ciężkości OBS.

### **Cele cząstkowe pracy**

- 1) Ocena stężenia wskaźników stanu zapalnego w surowicy krwi: IL-1, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  oraz białka C-reaktywnego u chorych z OBS.
- 2) Poszukiwanie korelacji między wybranymi parametrami stanu zapalnego a grubością kompleksu intima – media u pacjentów z OBS.
- 3) Ocena związku między stężeniem wybranych wskaźników stanu zapalnego a grubością kompleksu intima – media w odniesieniu do stopnia ciężkości OBS.

### **3. MATERIAŁ I METODY**

#### **3.1. Populacja badana**

##### **ETAP I – kwalifikacja wstępna**

Badania przeprowadzono na grupie 209 mężczyzn w wieku od 30 do 70 lat, zgłaszających zaburzenia oddychania podczas snu w Poradni Przyklinicznej w Poznaniu, przy ulicy Szamarzewskiego 84, w oparciu o wyniki badań ankietowych. Pacjenci byli rekrutowani przez okres 15 miesięcy od 01.02.2011 – 23.04.2012. W okresie skringingu wykorzystano Skalę Senności Epworth (tabela 1), umożliwiającą ocenę subiektywnego uczucia senności w czasie dnia [74] oraz wyniki ankiety skonstruowanej na potrzeby niniejszego projektu badawczego (załącznik nr 2). Ankiety wypełniło 209 pacjentów Poradni Przyklinicznej. Na podstawie uzyskanych wyników badania ankietowego z dalszego udziału w badaniu wykluczono 77 pacjentów, u których współistniała jedna lub kilka jednostek chorobowych, takich jak: nadciśnienie tętnicze, choroba wieńcowa (zarówno wariant stabilny choroby - dusznica bolesna, jak i przebyty zawał mięśnia sercowego), niewydolność serca, cukrzyca, udar mózgu, hiperlipidemia, przewlekłe choroby zapalne, choroby nowotworowe i autoimmunologiczne, przewlekła choroba nerek, przewlekłe choroby wątroby.

##### **ETAP II- diagnostyka OBS w Laboratorium Snu**

Do dalszego etapu projektu badawczego włączono 132 pacjentów w wieku od 30 do 70 lat, którzy uzyskali w skali Epworth  $\geq 11$  punktów, nie mieli wymienionych powyżej chorób współistniejących oraz nie stosowali przewlekłe farmakoterapii, mogącej wpływać na wyniki przeprowadzonych badań.

U osób tych potwierdzono występowanie OBS na podstawie pełnej polisomnografii (PSG) za pomocą aparatu klasy 1: EMBLA S4000 - Remlogic z oprogramowaniem Somnologica Studio 5,0 (Natus 2009) - podczas dwudniowej hospitalizacji w Klinice Pulmonologii, Alergologii i Onkologii Pulmonologicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

Po przeprowadzeniu badania polisomnograficznego z dalszego udziału w badaniu wyłączono tych mężczyzn, u których na podstawie średnich wartości ciśnienia tętniczego z powtarzanych pomiarów rozpoznano de novo nadciśnienie tętnicze (19 osób).

Ostatecznie do dalszych badań włączono 60 mężczyzn, których przyporządkowano do 3 grup liczących po 20 osób, z uwzględnieniem stopnia zaawansowania OBS (OBS w stopniu 1, 2 i 3). Grupę kontrolną stanowiło 20 mężczyzn dobranych wiekowo, u których nie potwierdzono OBS na podstawie PSG. Kryterium włączenia do grupy kontrolnej stanowiła również, przybliżona w porównaniu z grupą badaną, zgodność parametrów antropometrycznych.

### **ETAP III - badania laboratoryjne i ultrasonograficzne**

U wszystkich osób włączonych do tego etapu badania i w grupie kontrolnej wykonano procedury diagnostyczne zgodnie z protokołem pracy. Kwalifikowano do badania osoby z liczbą leukocytów (WBC) i wartością hematokrytu (Ht) w morfologii krwi obwodowej w zakresie wartości referencyjnych. Kryterium włączenia do badania stanowił też prawidłowy wynik badania gazometrycznego z krwi włośniczkowej.

Zastosowano dwudniowy protokół badania. Pierwszego dnia pacjenci podpisywali świadomą, pisemną zgodę na proponowany zakres badań. Na przeprowadzenie procedur zgodnie z protokołem uchwałą nr 139/11 z dnia 17.02.2011 roku uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu.

Następnie przeprowadzano badanie podmiotowe i przedmiotowe. Kolejno pobierano krew na badania laboratoryjne, takie jak: stężenie glukozy, parametry gospodarki lipidowej (triglicerydy, cholesterol całkowity, cholesterol frakcji HDL, cholesterol frakcji LDL), wskaźniki stanu zapalnego (białko hs CRP, interleukina-1, interleukina-6, interleukina-10, TNF- $\alpha$ ) w surowicy krwi. Dokonywano również pierwszego pomiaru wartości ciśnienia tętniczego krwi. Następnie pacjenci byli poddani badaniu polisomnograficznemu. Drugiego dnia wykonywano drugi pomiar ciśnienia tętniczego krwi oraz pomiar grubości kompleksu błona wewnętrzna - błona środkowa tętnic szyjnych.

## **3.2. Metody badawcze**

### **3.2.1. Skala senności Epworth**

Obiektywną metodą oceny nadmiernej senności dziennej (NSD) jest kwestionariusz senności, opracowany w 1991 r. przez Johnsa w szpitalu Epworth w Melbourne [74]. Skala senności Epworth składa się z 8 pytań dotyczących

możliwości zaśnięcia w konkretnych sytuacjach życiowych (Tabela 1). Respondent dokonuje wyboru czterech możliwości, gdzie 0 oznacza, że zaśnięcie jest niemożliwe, a 3 oznacza wysokie prawdopodobieństwo zaśnięcia. Zakres punktacji obejmuje 0-24 punkty. Za normę przyjęto wartości z przedziału 0-10, w przypadku wyniku pomiędzy 11 a 14 rozpoznawana jest senność umiarkowana, a powyżej 14 punktów - ciężka senność dzienna [75].

**Tabela 1.** Skala senności Epworth

	0	1	2	3
	Brak	Małe	Średnie	Duże
1. Siedząc lub czytając				
2. Oglądając telewizję				
3. Siedząc w miejsce 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				
<b>Suma punktów:</b>				

Wyniki skali Epworth dobrze korelują z polisomnograficznymi cechami deprivacji snu.

### 3.2.2. Polisomnografia

U pacjentów hospitalizowanych w Klinice Pulmonologii, Alergologii i Onkologii Pulmonologicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu wykonano pełne badanie polisomnograficzne (aparatury EMBLA S4000 – Remlogic, Somnologica Studio 5,0; Natus 2009), które jest tzw. złotym standardem w diagnostyce OBS.

Badanie zostało poprzedzone kwestionariuszem zaburzeń oddychania w czasie snu, uzupełnionym o skalę senności (skala Epworth) i badanie przedmiotowe [58].

Zgodnie z wytycznymi AASM z 2007 roku [78], dotyczącymi analizy snu i związanych z nim epizodów, w trakcie badania PSG zarejestrowano zmienne, które służą do oceny struktury snu:

- 1) analiza elektroencefalogramu (EEG) z odprowadzeń F4-M1, C4-M1, O2-M1;
- 2) elektrookulogram (EOG) (odprowadzenia E1-M2 i E2-M2) stosowany w celu wykrycia tzw. szybkich ruchów gałek ocznych;
- 3) elektromiogram (EMG) – wykorzystywany głównie w analizie fazy snu REM (rapid eye movements).

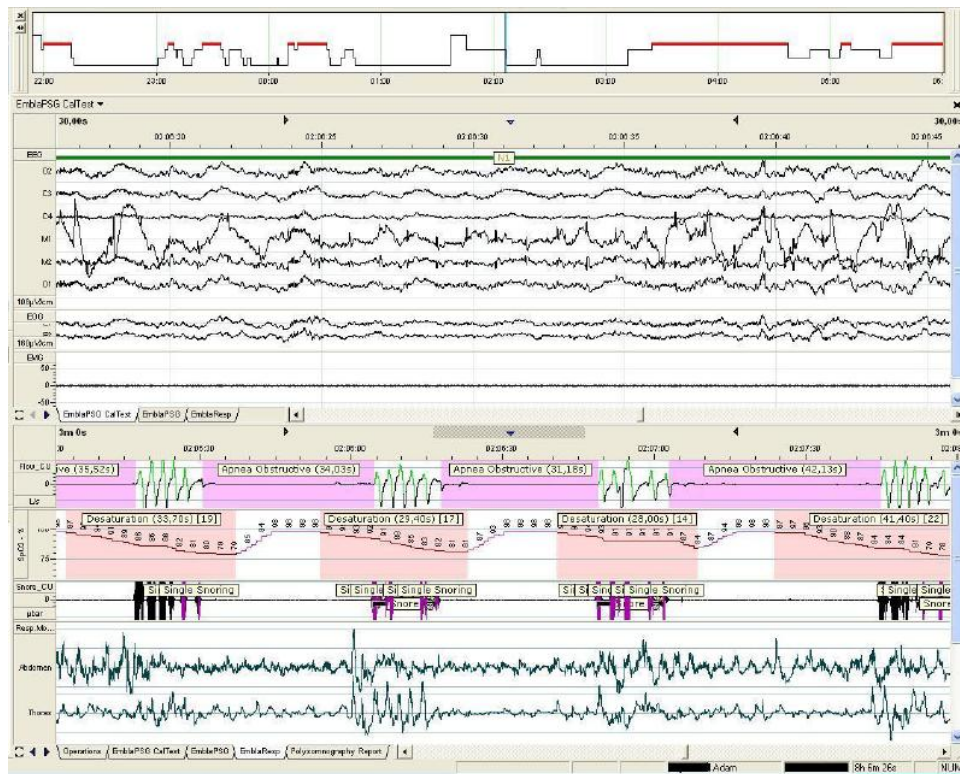
W opisie snu uwzględniono następujące stadia: stadium W (czuwanie), stadium N1 (NREM1), stadium N2 (NREM2), stadium N3 (NREM3 + NREM4) oraz stadium R (REM) [79].

PSG wykonywano w godzinach nocnych, a chory pozostawał w łóżku w laboratorium snu tak długo, jak w czasie normalnego snu. W celu ustalenia dokładnego rozpoznania zarejestrowano zarówno sen NREM (*non-rapid-eye-movements*), jak i REM (*rapid-eye-movements*). Chory miał możliwość spania w każdej pozycji, a zastosowane czujniki przytwierdzono tak, aby sen był zakłócony w stopniu minimalnym [80].

W interpretacji czynności oddechowej uwzględniono zapis z przedstawionych czujników:

- 1) czujnika termistorowego do rejestracji przepływu powietrza przez usta i przez nos (pozwalającego na wykrycie bezdechów);
- 2) kaniuli nosowej do pomiaru ciśnienia nosowego (pozwalającej na wykrycie bezdechów i spłyceń oddechu);
- 3) czujnika do wykrywania ruchów oddechowych;
- 4) czujnika do wykrywania ruchów oddechowych brzucha;
- 5) czujnika pulsoksymetrycznego do rejestracji wysycenia krwi tętniczej tlenem;
- 6) czujnika pozycji ciała;
- 7) czujników elektrokardiografii [78,81].

Stadia snu określono oddzielnie w poszczególnych jednostkach zapisu PSG, tj. w trwających 30s fragmentach, zwanych epokami [78, 79].



**Ryc.2.** Zapis polisomnograficzny pacjenta z Kliniki Pulmonologii, Alergologii i Onkologii Pulmonologicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu – obturacyjny bezdech senny ciężkiego stopnia. Obraz określa fazy snu (elektrookulografia, elektroencefalografia, elektromiografia). Widoczne zaprzestanie przepływu powietrza w odcinku określającym czynności oddechowe, przy jednoczesnym zachowaniu ruchów klatki piersiowej i brzucha. U góry schematu zwraca uwagę hipnogram przedstawiający stadia snu pacjenta.

### 3.2.3. Badanie podmiotowe i przedmiotowe

Ocena stanu klinicznego pacjenta została przeprowadzona w oparciu o wywiad oraz badanie przedmiotowe według kwestionariusza historii choroby obowiązującej w Katedrze i Klinice Pulmonologii, Alergologii i Onkologii Pulmonologicznej UM w Poznaniu, z uwzględnieniem aspektów schorzeń współistniejących i prowadzonej terapii.

Zgodnie z protokołem badania, przy użyciu wagi lekarskiej, dokonano pomiaru masy ciała i wzrostu z dokładnością do 0,1 kg oraz 1 cm. Następnie u wszystkich osób z grupy badanej i kontrolnej wyliczono wskaźnik masy ciała (*body mass index*) – BMI, według wzoru:  $[\text{masa ciała}(\text{kg})]/[\text{wzrost}(\text{m})]^2$ .

### 3.2.4. Pomiar ciśnienia tętniczego krwi

Pomiaru ciśnienia tętniczego dokonano metodą konwencjonalną dwukrotnie. Pierwszy pomiar miał miejsce w dniu założenia polisomnografii, drugi - dnia



następnego, po wykonanym badaniu PSG. Dla każdego badanego, zarówno w grupie badanej, jak i kontrolnej, została wyliczona wartość średnia skurczowego (SBP) i rozkurczowego (DBP) ciśnienia tętniczego krwi. Pomiaru ciśnienia tętniczego krwi dokonano zgodnie z wytycznymi PTNT z roku 2011 [82].

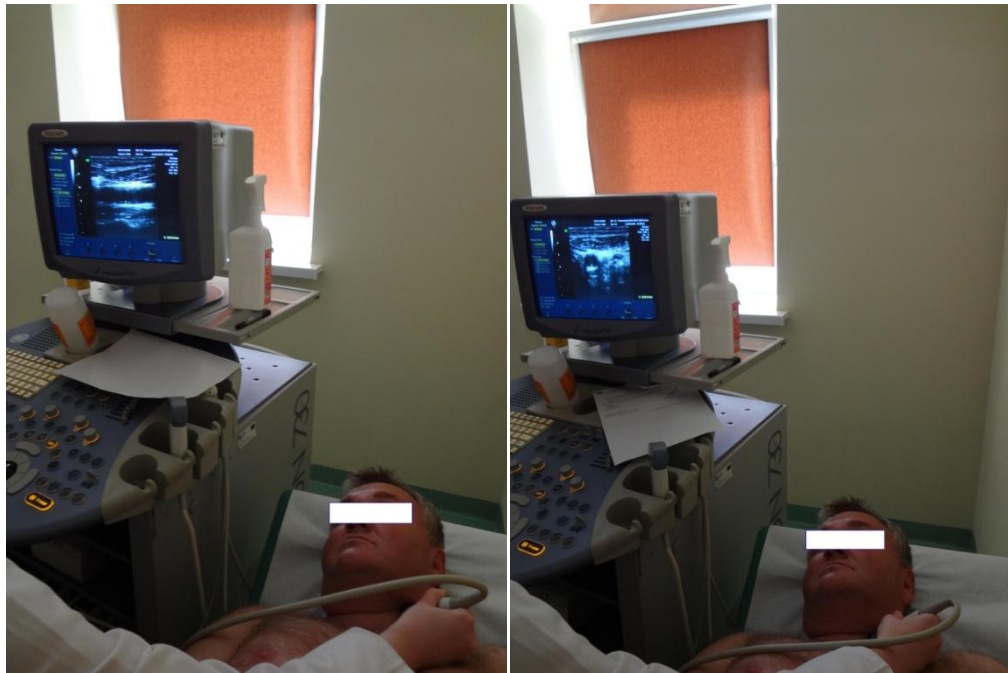
#### **3.2.4. Pomiar grubości kompleksu intima – media tętnic szyjnych**

Przy ocenie grubości kompleksu intima – media tętnic szyjnych skorzystano z pomocy Pracowni Radiologii Szpitala Klinicznego Przemienienia Pańskiego przy ulicy Szamarzewskiego 84 w Poznaniu.

Pomiar grubości kompleksu błony wewnętrznej i środkowej tętnic szyjnych został wykonany w dystalnym odcinku tętnicy szyjnej wspólnej nieinwazyjną metodą ultrasonograficzną w trybie duplex i B-mode przy użyciu aparatu USG GE Voluson 730 Pro z głowicą liniową 6-12 MHz (General Electric Company, USA, 2011).

Ocena grubości kompleksu, ze względu na własności fizyczne wiązki ultradźwiękowej, dokonana została na ścianie dystalnej do głowicy aparatu. Podczas badania pacjent leżał z głową odwiedzioną, zwróconą nieco w kierunku przeciwnym do strony badanej. Głowicę ustawiano prostopadle do naczynia na przednio-bocznej powierzchni szyi. Aktywacja obrazów następowała w przekroju podłużnym i poprzecznym naczynia. Pomiaru wykonano w kilku punktach, około 1 cm proksymalnie w stosunku do zatoki tętnicy szyjnej wspólnej. Wynik stanowiący grubość kompleksu intima - media przedstawiony został jako średnia wykonanych pomiarów dla tętnicy szyjnej prawej (KIM1) oraz tętnicy szyjnej lewej (KIM2).

Na podstawie opublikowanego konsensusu ujednolicono zasady oceny KIM [78]. Autorzy w cytowanej rozprawie dowodzą, iż jedynie pomiar dokonany w zakresie tętnicy szyjnej wspólnej (CCA - *common carotid artery*) pozwala na wiarygodną ocenę KIM, pomimo dopuszczenia możliwości przeprowadzenia pomiaru w obrębie początkowego odcinka tętnicy szyjnej wewnętrznej (ICA – *internal carotid artery*) oraz w opuszcze (carotid bulb).



**Ryc.3.** Ocena grubości kompleksu intima – media w dystalnym odcinku tętnicy szyjnej wspólnej lewej w przekroju poprzecznym (zdjęcie po stronie lewej) i podłużnym naczynia (zdjęcie po stronie prawej)

### 3.2.5. Oznaczenie stężenia wskaźników zapalnych w surowicy krwi

Badania laboratoryjne wykonano w Laboratorium Diagnostyki Hematologicznej Nr 2 Szpitala Klinicznego *Przemienienia Pańskiego* Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu przy ulicy Szamarzewskiego 84.

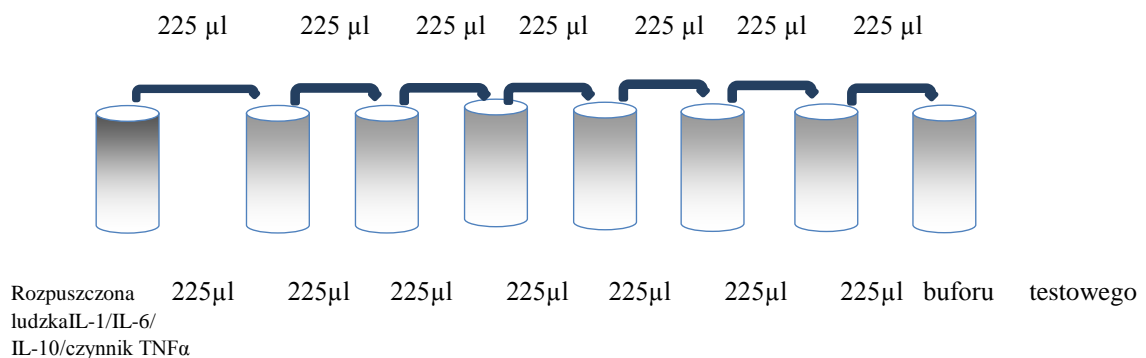
Oznaczenia stężenia: IL-1, IL-6, IL-10, czynnika TNF- $\alpha$  w surowicy dokonano metodą ELISA (enzyme linked immunosorbent assay), zestaw firmy eBioscience o numerze katalogowym: BMS213/2CE.

#### **Zasada oznaczenia:**

- 1) Mikropłytką ELISA jest fabrycznie opłaszczona przeciwciałem przeciwko ludzkiej IL-1/IL-6/IL-10 oraz czynnikowi TNF- $\alpha$ ;
- 2) Pierwsza inkubacja: ludzka IL-1/IL-6/IL-10/czynnik TNF- $\alpha$  obecna/y w próbce badanej/wzorcowej/kontrolnej przyłącza się do przeciwciała, którym pokryta jest mikropłytką ELISA. Koniugat (drugie przeciwciało przeciw ludzkiej IL-1/IL-6/IL-10/czynnikowi TNF- $\alpha$  skoniugowane z biotyną) jest dodawany na płytkę i wiąże się z ludzką IL-1/IL-6/IL-10/czynnikiem TNF- $\alpha$ . pierwotnie „wyłapaną/ym” przez pierwsze przeciwciało;

- 3) Po upłygnięciu wskazanego przez producenta czasu inkubacji nadmiar niezwiązanego koniugatu jest usuwany w procesie płukania płytki ELISA przy użyciu dołączonego do zestawu buforu płuczającego. Następnie na płytkę dodawana jest streptawidyna sprzężona z peroksydazą chrzanową (ang. horseradish peroxidase - HRP), która przyłącza się do koniugatu (biotyny skoniugowanej z przeciwciałem przeciw ludzkiej IL-1/IL-6/IL-10/ czynnikiowi TNF- $\alpha$ );
- 4) Po upłygnięciu wskazanego czasu inkubacji niezwiązany kompleks streptawidyna-HRP zostaje wypłukany z płytki w kolejnej procedurze przemywania. Następnie na płytkę dodawany jest roztwór substratu, mającego zdolność reakcji ze streptawidyną;
- 5) Powstaje barwny produkt reakcji. Po czasie podanym przez producenta dalsze rozwijanie się reakcji jest wstrzymywane przez dodanie do studzienek kwasu. Otrzymana barwa jest wprost proporcjonalna do stężenia IL-1/IL-6/iL-10/ czynnikiowi TNF- $\alpha$  w surowicy badanej/ wzorcowej/ kontrolnej. Natężenie barwy produktu reakcji jest mierzone przy długości fali  $\lambda=450$  nm. Krzywa wzorcowa składa się z 7 punktów otrzymanych przez seryjne rozcieńczenie materiału wzorcowego o znanym stężeniu IL-1/IL -6/IL-10/ czynnika TNF- $\alpha$ , dołączonego do zestawu. Stężenia IL-1/IL-6/IL-10/ czynnika TNF- $\alpha$  w próbkach badanych określa się przez ekstrapolację otrzymanych absorbancji na krzywą wzorcową.

Schemat seryjnego rozcieńczania wzorca zamieszczono na poniższej rycinie (ryc. 4):



**Ryc.4.** Schemat seryjnego rozcieńczania wzorca w oznaczaniu cytokin

*Wartości referencyjne:*

- **Interleukina 1:** <1,1 pg/ml
- **Interleukina 6:** <0,92 pg/ml
- **Interleukina 10:** >20 pg/ml
- **TNF- $\alpha$ :** <4,4 pg/ml

### **3.2.6. Oznaczenie stężenia parametrów biochemicznych w surowicy krwi**

Badania laboratoryjne wykonano w Laboratorium Nr 2 Szpitala Klinicznego *Przemienienia Pańskiego* Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu przy ulicy Szamarzewskiego 84.

Dokonano oceny parametrów metabolicznych w 4 wyselekcjonowanych grupach osób:

- 1) Osoby z OBS w stopniu łagodnym (20 osób) - OBS 1
- 2) Osoby z OBS w stopniu umiarkowanym (20 osób) - OBS 2
- 3) Osoby z OBS w stopniu ciężkim (20 osób) - OBS 3
- 4) Grupa kontrolna (20 osób).

W każdej z wybranych grup wykonano następujące oznaczenia laboratoryjne:

- 1) Stężenie surowicze cholesterolu całkowitego (TCHOL), cholesterolu frakcji HDL (HDL-C), cholesterolu frakcji LDL (LDL-C) oraz triglicerydów (TAG);
- 2) Stężenie surowicze glukozy;
- 3) Stężenie surowicze białka C-reaktywnego (hs CRP)

Krew do badań pobierano od uczestników badania na czczo. Krew żylną pobraną na skrzep wirowano przez 15 minut (4000 obrotów/min). Surowice natychmiast po odwirowaniu rozdzielano na mniejsze porcje, z których część zamrażano w temperaturze poniżej - 20°C do czasu otrzymania odczynników, a pozostałą część przeznaczano do oznaczeń wykonywanych rutynowo w laboratorium.

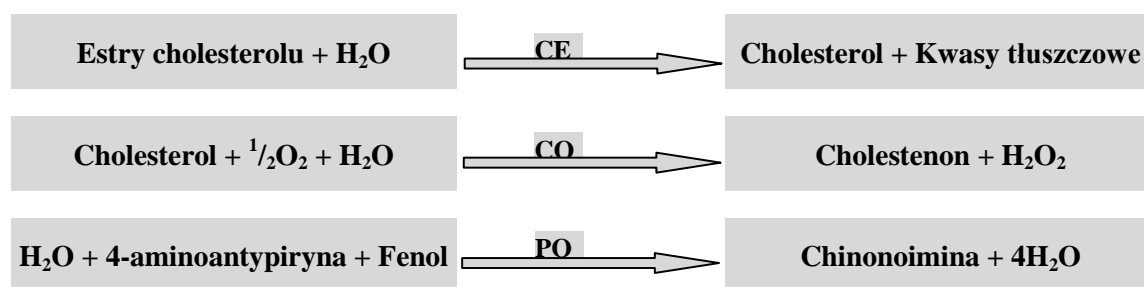
### 3.2.6.1. Oznaczanie parametrów gospodarki lipidowej

#### 3.2.6.1.1. Oznaczanie stężenia cholesterolu całkowitego (TCHOL) enzymatycznym testem kolorymetrycznym

##### Zasada metody:

Estry cholesterolu są hydrolizowane do cholesterolu i kwasów tłuszczowych w obecności esterazy cholesterolowej (CE). Wolny cholesterol, przy udziale oksydazy cholesterolowej (CO), jest utleniany do cholestenonu i nadtlenu wodoru. W następnym etapie uwolniony tlen z nadtlenu wodoru, w obecności peroksydazy (PO) i fenolu, przekształca 4-aminoantypirynę do chinonoiminy, która wykazuje czerwone zabarwienie.

Zamieszczona ryc. 5 ukazuje mechanizm zachodzących reakcji:



Ryc. 5. Mechanizm reakcji chemicznych w oznaczaniu stężenia TCHOL

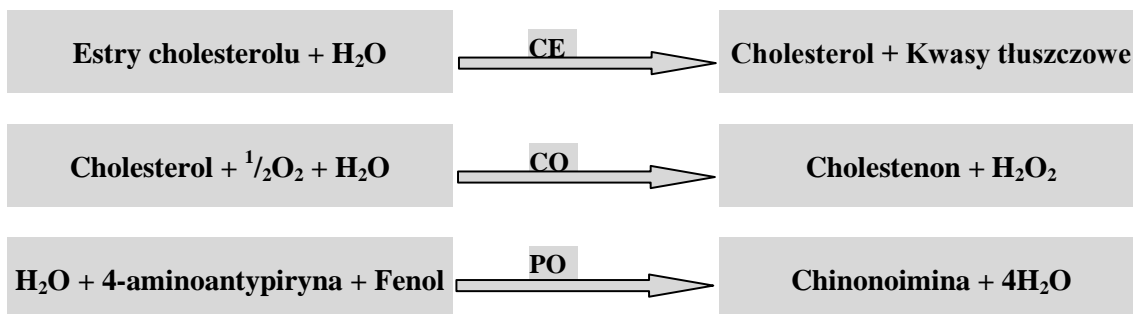
Wartości referencyjne: 3,6 – 5,2 mmol/l (< 200 mg/dl).

#### 3.2.6.1.2. Oznaczanie stężenia cholesterolu frakcji HDL (HDL- C) enzymatycznym testem kolorymetrycznym

##### Zasada metody:

W oznaczanej próbce lipoproteiny o bardzo małej gęstości (VLDL) oraz lipoproteiny o małej gęstości (LDL) są strącane fosfolframanem i jonami magnezu. W ten sposób powstaje supernatant zawierający lipoproteiny o dużej gęstości (HDL). Następnie estry cholesterolu z frakcji HDL, zawarte w supernatancie, są hydrolizowane do cholesterolu i kwasów tłuszczowych przy udziale esterazy cholesterolowej (CE). Wolny cholesterol ulega reakcji utlenienia do cholestenonu i nadtlenu wodoru przy udziale oksydazy cholesterolowej (CO). Uwolniony z nadtlenu wodoru tlen, w obecności peroksydazy (PO) i fenolu, przekształca 4-aminoantypirynę do chinonoiminy, wykazującej czerwone zabarwienie.

Mechanizm zachodzących reakcji przedstawia poniższa ryc. 6.



Ryc. 6. Mechanizm reakcji chemicznych w oznaczaniu stężenia HDL-C

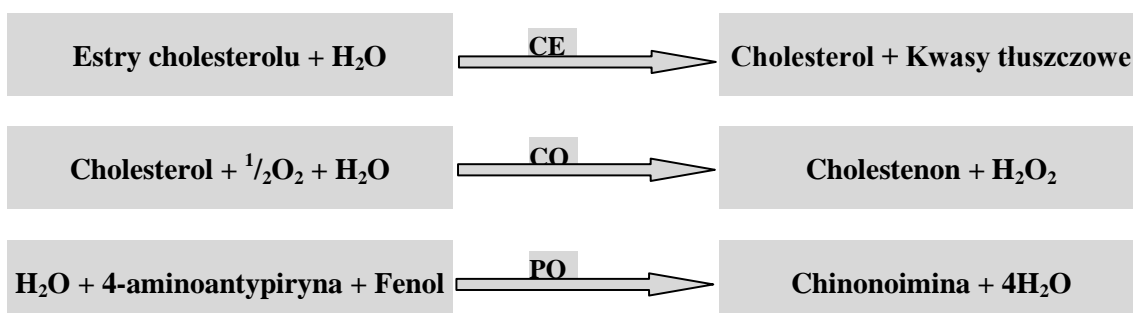
Wartości referencyjne: > 0,9 mmol/l (> 35 mg/dl).

### 3.2.6.1.3. Oznaczanie stężenia cholesterolu frakcji LDL( LDL-C) bezpośrednim testem enzymatycznym, metodą eliminacji

#### Zasada metody:

Chylomikrony, lipoproteiny o bardzo małej gęstości (VLDL) oraz lipoproteiny o dużej gęstości (HDL) ulegają eliminacji poprzez strącanie kationami metali dwuwartościowych. W ten sposób uzyskuje się supernatant zawierający lipoproteiny o małej gęstości (LDL). Estry cholesterolu związane z LDL są hydrolizowane do cholesterolu i kwasów tłuszczowych przy udziale esterazy cholesterolowej (CE). Wolny cholesterol, przy udziale oksydazy cholesterolowej (CO), ulega utlenieniu do cholestenonu i nadtlenku wodoru. Tlen uwolniony z nadtlenku wodoru, w obecności peroksydazy (PO) i fenolu, przekształca 4-aminoantypirynę do chinonoiminy mającej czerwone zabarwienie.

Mechanizm zachodzących reakcji przedstawia schemat na poniższej ryc. 7.



Ryc. 7. Mechanizm reakcji chemicznych w oznaczaniu stężenia LDL-C

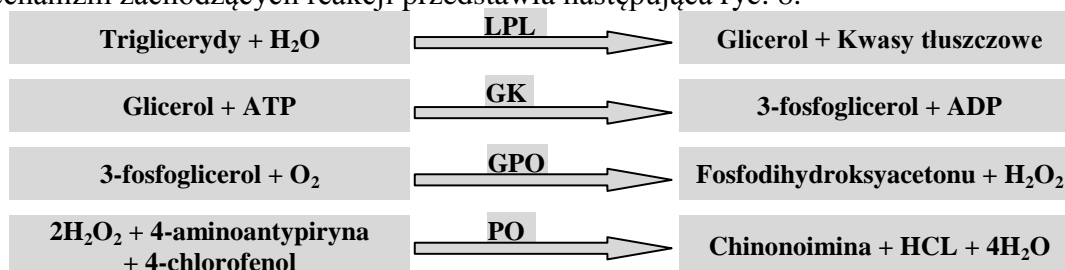
Wartości referencyjne: < 3,5 mmol/l (< 135 mg/dl).

### 3.2.6.1.4. Oznaczanie stężenia triglicerydów (TAG) enzymatycznym testem kolorymetrycznym

#### Zasada metody:

Triglicerydy ulegają hydrolizie do glicerolu i wolnych kwasów tłuszczowych przy udziale lipazy lipoproteinowej (LPL). Glicerol, przy udziale kinazy glicerolowej (GK) i ATP, jest następnie przekształcany do 3-fosfoglicerolu i ADP. Z kolei 3-fosfoglicerol, przy udziale oksydazy glicerolofosforanowej (GPO), ulega utlenianiu do fosfodihydroksyacetonu i nadtlenku wodoru. Uwolniony z nadtlenku wodoru tlen, przy udziale peroksydazy (PO) i 4-chlorofenolu, przekształca 4-aminoantypirynę do chinonoiminy, wykazującej czerwone zabarwienie.

Mechanizm zachodzących reakcji przedstawia następująca ryc. 8.



Ryc. 8. Mechanizm reakcji chemicznych w oznaczaniu stężenia TAG

Wartości referencyjne: < 1,7 mmol/l ( < 150 mg/dl).

### 3.2.6.2. Oznaczanie stężenia glukozy metodą enzymatyczną

Do oznaczenia pobierano krew na fluorek sodu lub szczawian sodu.

#### Zasada metody:

Glukoza ulega reakcji fosforylacji do glukozy-6-fosforanu, przy udziale heksokinazy (HK) i jonów magnezu oraz w obecności ATP. Następnie dehydrogenaza glukozy-6-fosforanowa (G-6-PDH) utlenia glukozy-6-fosforan do 6-fosfoglukonianu, a jednocześnie redukcji ulega NADP do NADPH. Powstawaniu NADPH towarzyszy wzrost absorbancji, który jest wprost proporcjonalny do stężenia glukozy. Absorbancję określa się przy użyciu techniki bichromatycznej punktu końcowego (340 i 383 nm).

Mechanizm zachodzących reakcji przedstawia ryc. 9:



**Ryc. 9.** Mechanizm reakcji chemicznych w oznaczaniu stężenia glukozy

*Wartości referencyjne:* 70 – 100 mg/dl (3,9 – 5,6 mmol/l).

### 3.2.6.3. Oznaczanie stężenia białka C-reaktywnego (hs CRP)

Metoda oznaczania oparta jest na technice turbidymetrycznego testu immunologicznego, wzbogaconego o dodatkowe cząsteczki (PETIA). Syntetyczne cząsteczki, opłaszczone przeciwciałami dla białka C- reaktywnego (AbPR), agregują w obecności białka C- reaktywnego w próbce. Wzrost zmętnienia, który towarzyszy agregacji, jest proporcjonalny do stężenia oznaczanego białka.

*Wartości referencyjne:* 0 - 5,0 mg/l.

### 3.2.7. Metody statystyczne

Oceny zróżnicowania analizowanych danych w odniesieniu do wyróżnionych czynników dokonano na dwóch poziomach opisu i analizy danych: jedno- i wielocechowym.

W jednocechowym opisie statystycznym wykorzystano wartości średniej arytmetycznej, mediany, odchylenia standardowego, minimum i maksimum zmiennej.

W analizie statystycznej zastosowano testy parametryczne i nieparametryczne. Dla danych ciągłych spełniających założenia normalności wykorzystano test t-Studenta i jednoczynnikową analizę wariacji ANOVA, a dla danych niespełniających założeń test U Manna-Whitney'a i test ANOVA rang Kruskala-Wallisa (na wykresach oznaczone skrótami M-W i K-W). Testu Kruskala-Wallisa z testem post-hoc Dunna użyto dla oceny istotności różnic pomiędzy stopniami bezdechu.

Dla oceny współzmienności cech wykorzystano współczynnik korelacji Pearsona oraz korelacji porządku rang Spearmana (R).

Analizą wielocechową, wykorzystaną w opracowaniu, była analiza skupień. Wykorzystując metodę aglomeracji Warda otrzymano hierarchiczne drzewa grupujące badanych w skupienia o największym podobieństwie dla wybranego zestawu cech.



Powyższe analizy statystyczne wykonano przy użyciu programu STATISTICA 10.0 PL. We wszystkich testach jako istotną statystycznie uznano wartość  $p < 0,05$ .

Opis wykonania poszczególnych procedur zaczerpnięto z opracowania Andrzeja Stanisza: „Przystępny kurs statystyki w oparciu o program STATISTICA PL na przykładach z medycyny”.

### **3.2.8. Krytyka pracy**

Prowadzenie pracy badawczej w jednym ośrodku oraz stosunkowo niewielka liczebność próby, ogranicza możliwość ekstrapolowania uzyskanych wyników na ogólną populację pacjentów z obturacyjnym bezdechem sennym. Ze względów technicznych, a przede wszystkim ekonomicznych, nie była możliwa analiza parametrów laboratoryjnych u większej liczby uczestników. W prezentowanej pracy bardzo duży nacisk położono na staranną kwalifikację osób dobranych pod względem porównywalnych parametrów antropometrycznych i metabolicznych, a więc wyeliminowanie pacjentów z chorobami współistniejącymi, które potencjalnie rzutują na naturalny przebieg OBS. Należy podkreślić, iż w aspekcie naturalnego przebiegu OBS, wyselekcjonowanie pacjentów spełniających rygorystycznie kryteria kwalifikacji do badania, nie było zadaniem łatwym.

Warto natomiast zaznaczyć, iż do przeprowadzenia potrzebnych oznaczeń zapewniono identyczne warunki pobierania, przechowywania i analizy, aby wyeliminować wpływ potencjalnych czynników zewnętrznych na uzyskane wyniki.

Objęta badaniem grupa uwzględniała duży przedział wiekowy, co może implikować ograniczenie istotności statystycznej w aspekcie parametrów antropometrycznych i laboratoryjnych.

Należy rozważyć istotną kwestię zastosowanej metody badawczej i jej wpływu na uzyskane wyniki. Fakt wzrostu obserwowanych wyników fałszywie ujemnych w badaniach ankietowych może wiązać się z niechęcią badanych do zawarcia prawdziwej informacji w kwestionariuszu. Kolejnym mankamentem metody kwestionariuszowej jest trudność uzyskania wiarygodnych odpowiedzi na pytania związane ze stanem zdrowia, wynikająca z braku wiedzy respondenta. W populacji osób dorosłych często pojawia się też problem nieobiektywnej oceny choroby, związany z płcią, który wiąże się z zaniżoną, nieadekwatną do stanu faktycznego, relacją mężczyzn na temat własnego stanu zdrowia („underreporting”). Autorka

dołożyła wszelkich starań, aby maksymalnie wyeliminować błędy metodologiczne, mogące utrudnić właściwą analizę statystyczną i wyciągnięcie adekwatnych wniosków.

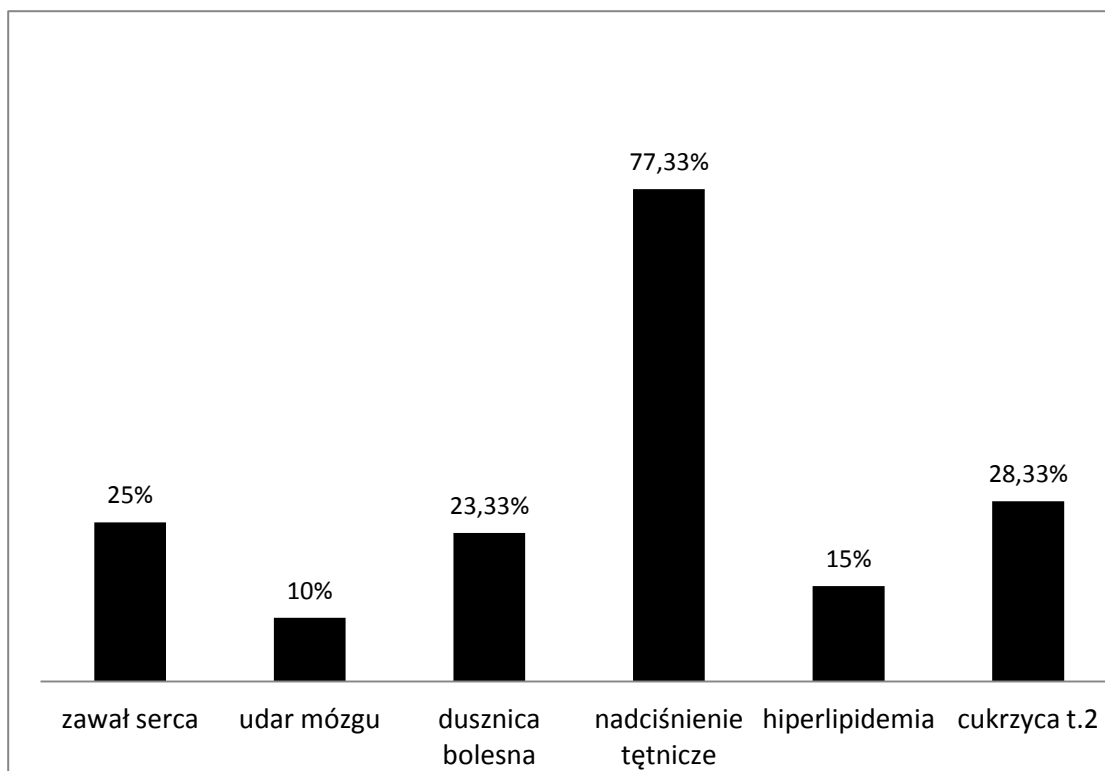
## 4. WYNIKI

### 4.1. Grupy badane w okresie wstępnej kwalifikacji do projektu badawczego (etap I i etap II)

Badania skriningowe przeprowadzono na grupie 209 mężczyzn w wieku od 30 do 70 lat zgłaszających zaburzenia oddychania podczas snu. W okresie skriningu wykorzystano Skalę Senności Epworth (tabela 1) oraz wyniki ankiety skonstruowanej na potrzeby niniejszej pracy. Kryteriami wykluczenia z dalszego udziału w projekcie badawczym były następujące jednostki chorobowe:

- nadciśnienie tętnicze,
- choroba wieńcowa (zarówno wariant stabilny choroby - dusznica bolesna, jak i przebyty zawał mięśnia sercowego),
- niewydolność serca,
- cukrzyca,
- udar mózgu,
- hiperlipidemia,
- przewlekłe choroby zapalne,
- choroby nowotworowe i autoimmunologiczne,
- przewlekła choroba nerek, wątroby.

Stwierdzono, iż najczęstszą jednostką chorobową wśród 77 pacjentów, których nie włączono do dalszego etapu projektu badawczego było nadciśnienie tętnicze, opisane w 77,33% przypadków, w dalszej kolejności: cukrzyca typu 2 (28,33%), przebyty zawał serca (25%), dusznica bolesna (23,33%), hiperlipidemia (15%). Najrzadziej został stwierdzony udar mózgu (10%). Procentowy rozkład chorób współistniejących z OBS prezentuje ryc. 10.



**Ryc. 10.** Rozkład procentowy chorób współistniejących w grupie 77 pacjentów, którzy nie zostali włączeni do dalszego etapu badania

## **4.2. Charakterystyka grup pacjentów zakwalifikowanych do etapu III**

### **4.2.1. Charakterystyka grupy badanej i kontrolnej**

#### **4.2.1.1. Wiek i parametry antropometryczne**

W grupie pacjentów z rozpoznaniem OBS minimalny wiek wynosił 35 lat, a maksymalny 70 lat, odpowiednio w grupie kontrolnej: 31 i 70 lat.

W grupie badanej najniższy pacjent mierzył 162 cm, a najwyższy 192 cm. W grupie kontrolnej odpowiednio średni wzrost dla najniższego pacjenta wynosił 169 cm, dla najwyższego – 186 cm.

Najmniejsza masa ciała w grupie pacjentów z OBS wyniosła 69 kg, największa - 138 kg. W grupie kontrolnej najmniejsza masa ciała, to 64 kg, a największa - 112 kg.

W grupie badanej najmniejszy obwód talii wynosił 83 cm, największy - 141 cm, odpowiednio w grupie kontrolnej: 84 i 120 cm.

Uzyskane wyniki zamieszczono w tabeli 2.

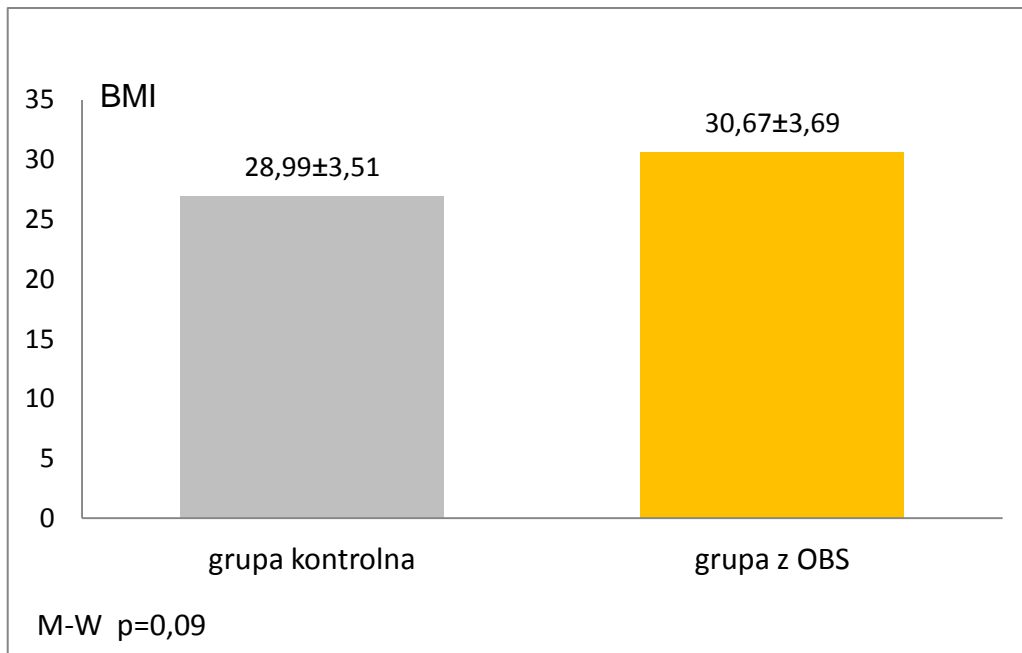
**Tabela 2.** Charakterystyka grupy z OBS i grupy kontrolnej w zakresie wieku i parametrów antropometrycznych

Parametr	Grupa z OBS		Grupa kontrolna		p
	średnia±SD	mediana	średnia ±SD	mediana	
<b>Wiek (lata)</b>	55,00 ±8,77	56,5	50,00 ±11,91	49,0	0,08
<b>Wysokość ciała (cm)</b>	174,00±8,52	173,0	177,00 ±4,84	176,0	0,09
<b>Masa ciała (kg)</b>	93,00±12,62	90,5	88,00 ±10,18	87,0	0,06
<b>Obwód talii (cm)</b>	104,00±8,81	106,0	98,00 ±8,65	98,0	0,02

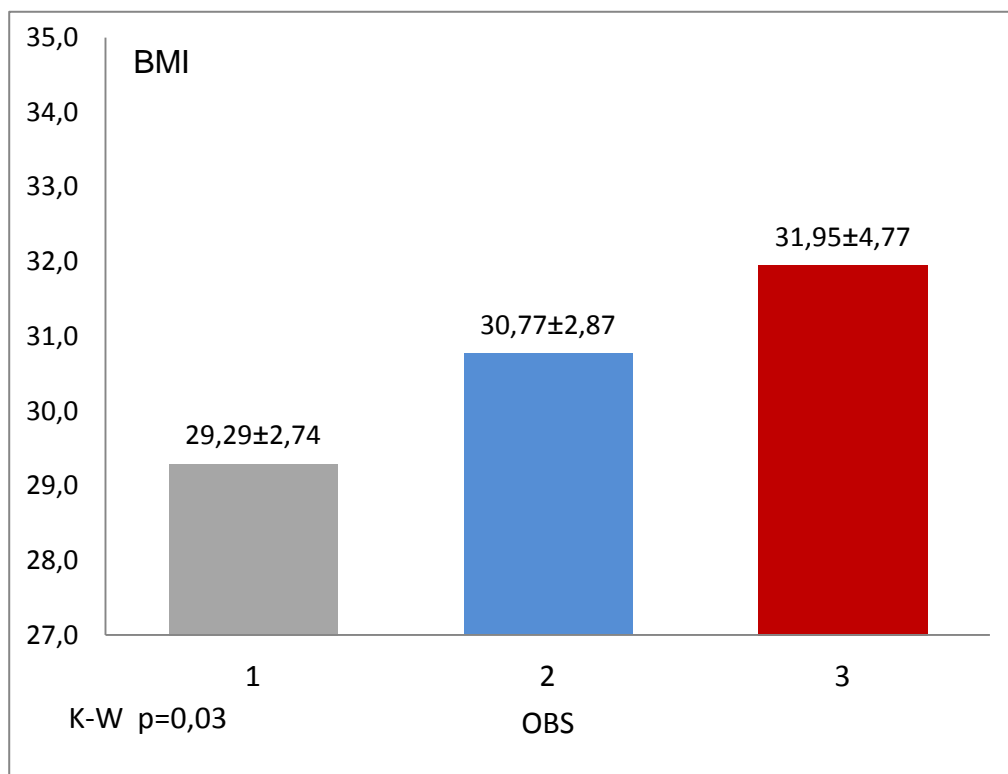
#### 4.2.1.2. Wskaźnik masy ciała - BMI

W oparciu o masę ciała i wzrost pacjentów wyliczono wskaźnik masy ciała. Stwierdzono, iż różnica między wartością BMI w grupie pacjentów z OBS w porównaniu do grupy kontrolnej nie była istotna statystycznie ( $p=0,09$ ), co przedstawia ryc. 11.

Analizując wielkość BMI w poszczególnych stopniach zaawansowania OBS stwierdzono najwyższą wartość w stopniu 3 –  $31,95 \pm 4,77$  kg/m<sup>2</sup>, natomiast najniższą w stopniu 1 -  $29,29 \pm 2,74$  kg/m<sup>2</sup>. Wykazano znamiennej statystycznie różnicę między OBS 1 vs OBS 2 (ryc. 12).



**Ryc. 11.** Wartość BMI w grupie badanej i w grupie kontrolnej



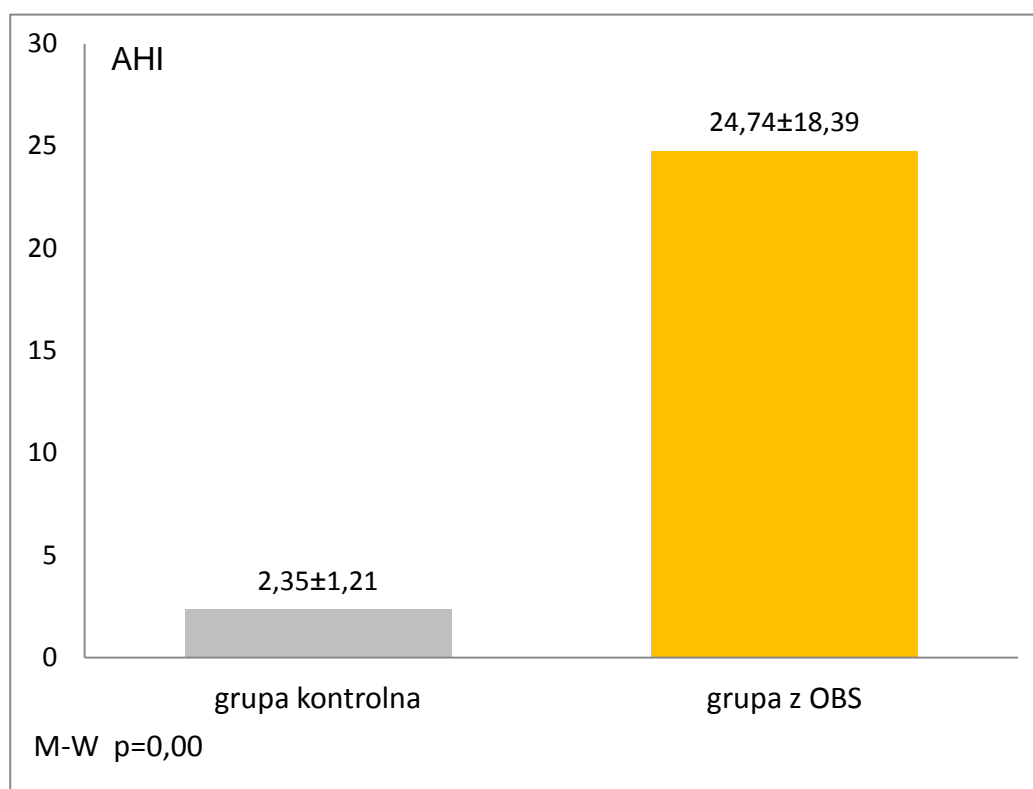
**Ryc. 12.** Wartość BMI w grupie badanej z uwzględnieniem poszczególnych stopni bezdechu: OBS-1, OBS-2, OBS-3 testem Kruskala-Wallisa i *post hoc* testem Dunna (tabela 3).

**Tabela 3.** Test Kruskala-Wallisa z testem Dunna dla ryc.12

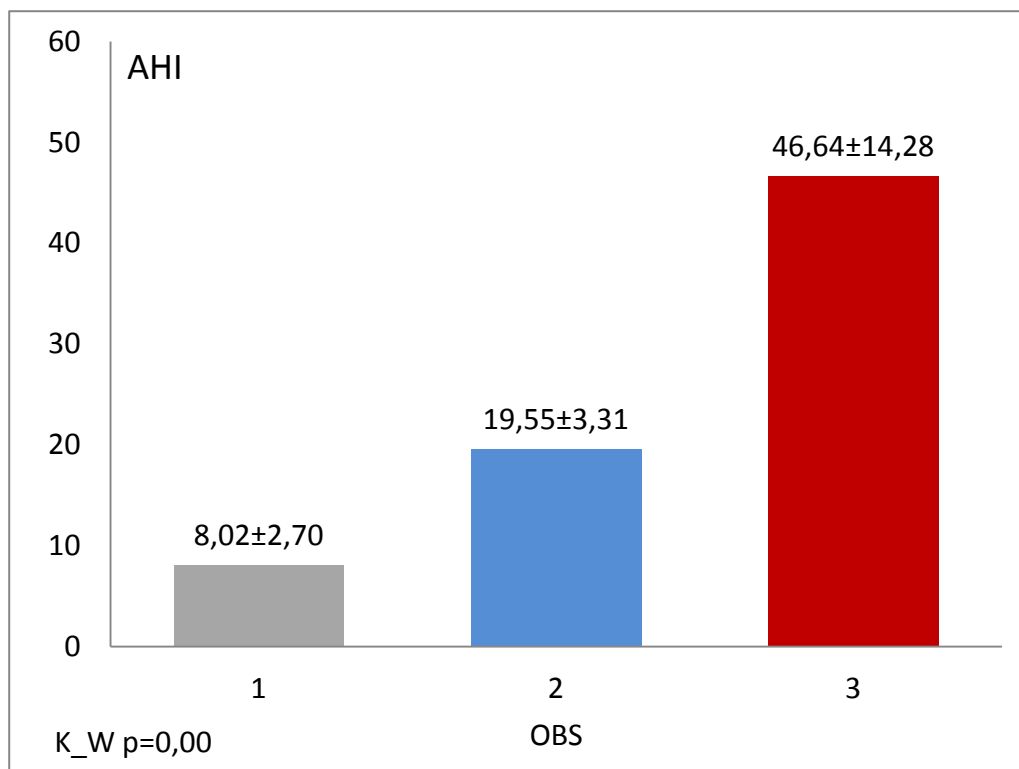
BMI	Test <i>post hoc</i> Dunna		
	OBS 1	OBS 2	OBS 3
OBS 1		0,05	0,94
OBS 2	0,05		0,30
OBS 3	0,94	0,30	

#### 4.2.1.3. Indeks bezdechów i sypień oddychania – AHI

Wykazano istotne statystycznie różnice w zakresie wartości AHI między grupą badaną a kontrolną,  $p = 0,00$  (ryc.13) oraz między wszystkimi stopniami zaawansowania choroby: OBS 1 vs OBS 2, OBS 2 vs OBS 3, OBS 1 vs OBS 3;  $p=0,00$  (ryc.4). Uzyskane wartości AHI wyniosły w grupie kontrolnej:  $2,35 \pm 1,21$ /h, odpowiednio w grupie badanej –  $24,74 \pm 18,39$ /h.



**Ryc. 13.** Wartość AHI w grupie badanej i w grupie kontrolnej.



**Ryc.14.** Wartość AHI w grupie badanej z uwzględnieniem poszczególnych stopni bezdechu: OBS-1, OBS-2, OBS-3 testem Kruskala-Wallisa i *post hoc* testem Dunna (tabela 4).

**Tabela 4.** Test Kruskala-Wallisa z testem Dunna dla ryc. 14

AHI	Test <i>post hoc</i> Dunna		
	OBS 1	OBS 2	OBS 3
OBS 1		0,00	0,00
OBS 2	0,00		0,00
OBS 3	0,00	0,00	

#### 4.2.1.4. Parametry laboratoryjne

Szczegółową charakterystykę grupy badanej i kontrolnej w zakresie parametrów antropometrycznych, laboratoryjnych, grubości kompleksu intima – media oraz stopnia bezdechu przedstawiono w tabelach 5 i 6.



**Tabela 5.** AHI, BMI, KIM1, KIM2, wskaźniki stanu zapalnego oraz parametry gospodarki węglowodanowej i lipidowej w grupie pacjentów z OBS.

<b>zmienna</b>	<b>N</b>	<b>średnia</b>	<b>SD</b>	<b>Mediana</b>	<b>Minimum</b>	<b>Maksimum</b>
<b>AHI</b>	60	24,74	18,39	18,20	5,30	76,40
<b>CRP (mg/L)</b>	60	7,23	8,26	3,48	0,51	49,20
<b>Glukoza (mmol/l)</b>	60	5,92	1,23	5,53	4,02	11,46
<b>TCHOL (mmol/l)</b>	60	5,34	1,08	5,29	3,16	8,84
<b>HDL-C (mmol/l)</b>	60	1,28	0,39	1,23	0,32	2,38
<b>LDL-C (mmol/l)</b>	60	3,37	0,92	3,17	1,46	6,12
<b>TAG (mmol/l)</b>	60	1,98	1,17	1,68	0,32	8,82
<b>KIM1 (cm)</b>	60	0,09	0,03	0,07	0,04	0,18
<b>KIM2 (cm)</b>	60	0,10	0,05	0,08	0,05	0,28
<b>IL-1 (pg/ml)</b>	60	1,14	1,43	0,73	0,55	8,83
<b>IL-6 (pg/ml)</b>	60	4,99	3,82	3,81	2,68	26,08
<b>IL-10 (pg/ml)</b>	60	11,92	6,52	10,08	8,42	51,97
<b>TNF-<math>\alpha</math> (pg/ml)</b>	60	12,54	7,65	13,40	0	28,80
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	60	30,67	3,69	30,15	22,30	48,90

**Tabela 6.** AHI, BMI, KIM1, KIM2, wskaźniki stanu zapalnego oraz parametry gospodarki węglowodanowej i lipidowej w grupie kontrolnej.

<b>zmienna</b>	<b>N</b>	<b>Średnia</b>	<b>SD</b>	<b>Mediana</b>	<b>Minimum</b>	<b>Maksimum</b>
<b>AHI</b>	20	2,35	1,21	2,10	0,70	4,50
<b>CRP (mg/L)</b>	20	2,23	1,05	1,95	0,58	4,51
<b>Glukoza (mmol/l)</b>	20	4,90	0,94	5,13	1,74	5,94
<b>TCHOL (mmol/l)</b>	20	5,55	1,47	5,53	3,10	8,25
<b>HDL-C (mmol/l)</b>	20	1,34	0,34	1,33	0,74	2,24
<b>LDL-C (mmol/l)</b>	20	3,71	1,01	3,63	2,12	5,64
<b>TAG (mmol/l)</b>	20	1,87	0,79	1,73	0,94	4,38
<b>KIM1 (cm)</b>	20	0,06	0,01	0,05	0,04	0,09
<b>KIM2 (cm)</b>	20	0,06	0,02	0,06	0,03	0,09
<b>IL-1 (pg/ml)</b>	20	0,77	0,29	0,74	0,07	1,66
<b>IL-6 (pg/ml)</b>	20	5,96	7,52	4,13	2,75	37,39
<b>IL-10 (pg/ml)</b>	20	14,58	10,65	11,74	8,86	56,40
<b>TNF-<math>\alpha</math> (pg/ml)</b>	20	12,56	4,6	12,4	1,40	21,40
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	20	28,99	3,51	26,55	19,50	38,30

**Objaśnienia:** AHI - indeks bezdechów i splotów oddychania (ang. *apnoea-hypopnoe index*), CRP - stężenie białka C-reaktywnego wysokiej czułości w surowicy; Glukoza - stężenie w surowicy krwi; stężenia w surowicy krwi: TCHOL - cholesterolu całkowitego, HDL-C - cholesterolu frakcji HDL, LDL-C - cholesterolu frakcji LDL, TAG - triglicerydów; KIM1 - grubość kompleksu intima – media mierzonego w obrębie prawej tętnicy szyjnej wspólnej; KIM2 – grubość kompleksu intima – media

mierzonego w obrębie lewej tętnicy szyjnej wspólnej; stężenia w surowicy: IL-1- interleukiny-1, IL-6 - interleukiny-6, IL-10 - interleukiny-10, TNF- $\alpha$  - czynnika martwicy guza (ang. *tumor necrosis factor*); BMI - wskaźnik masy ciała (ang. *body mass index*).

W badanej grupie nadwagę rozpoznano u 41,7%, otyłość u 55%. W grupie z ciężkim stopniem bezdechu 85% pacjentów było otyłych, a w stopniu łagodnym oraz umiarkowanym odsetek ten wynosił 40%. Nadwagę rozpoznano odpowiednio: w stopniu łagodnym u 55% chorych, w stopniu umiarkowanym – u 60% i w stopniu ciężkim u 10%.

### **4.3. Analiza jednocechowa zmiennych**

#### **4.3.1. Wartości ciśnienia tętniczego**

Uzyskane średnie wartości ciśnienia tętniczego krwi w grupie kontrolnej wynosiły dla ciśnienia skurczowego SBP – 130,00 mmHg  $\pm$  8,58 mmHg, dla ciśnienia rozkurczowego DBP – 77,25 mmHg  $\pm$  7,34 mmHg. Odpowiednio w grupie pacjentów z 1 stopniem bezdechu stwierdzono: SBP – 127,25 mmHg  $\pm$  9,20 mmHg, DBP - 76,00  $\pm$  8,41 mmHg, z 2 stopniem bezdechu uzyskano: SBP – 128,50 mmHg  $\pm$  8,72 mmHg, DBP - 75,25  $\pm$  9,61 mmHg oraz w 3 stopniu bezdechu: SBP – 139,00 mmHg  $\pm$  6,64 mmHg, DBP – 84,00 mmHg  $\pm$  4,53 mmHg.

#### **4.3.2. Grubość kompleksu intima – media**

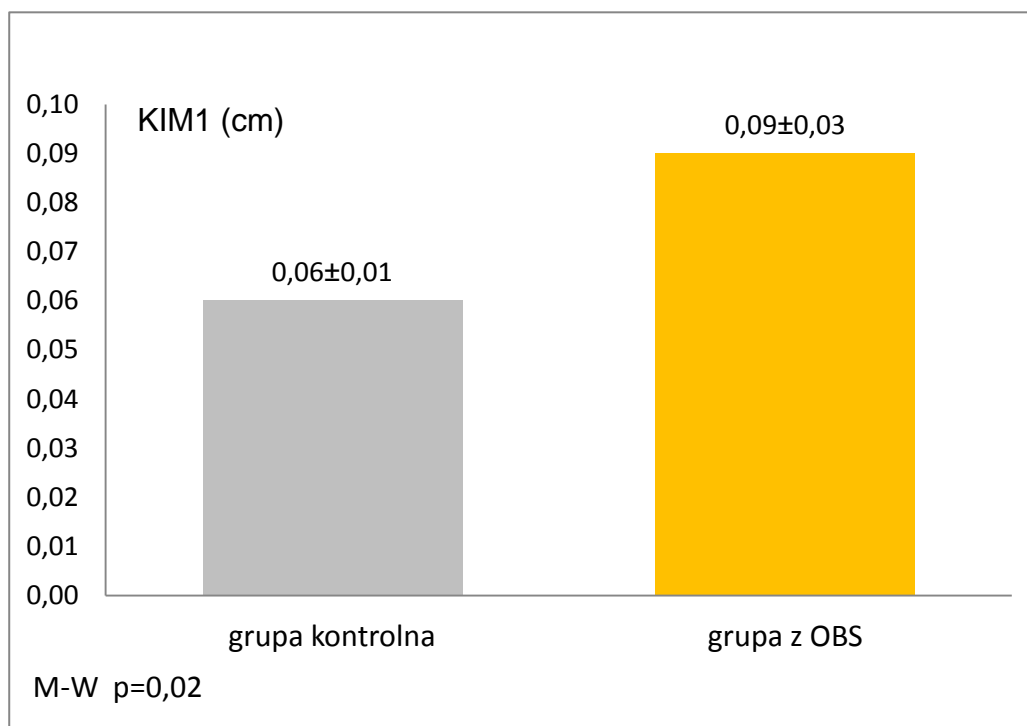
##### **4.3.2.1. Ocena grubości kompleksu intima – media w tętnicy szyjnej wspólnej prawej (KIM1) i lewej (KIM2) w grupie badanej i kontrolnej**

Na podstawie przeprowadzonej analizy statystycznej (tabela 7) wykazano istotne statystycznie różnice w wartościach parametrów KIM1 i KIM2. Wyniki przedstawiono na ryc. 15 i 16.

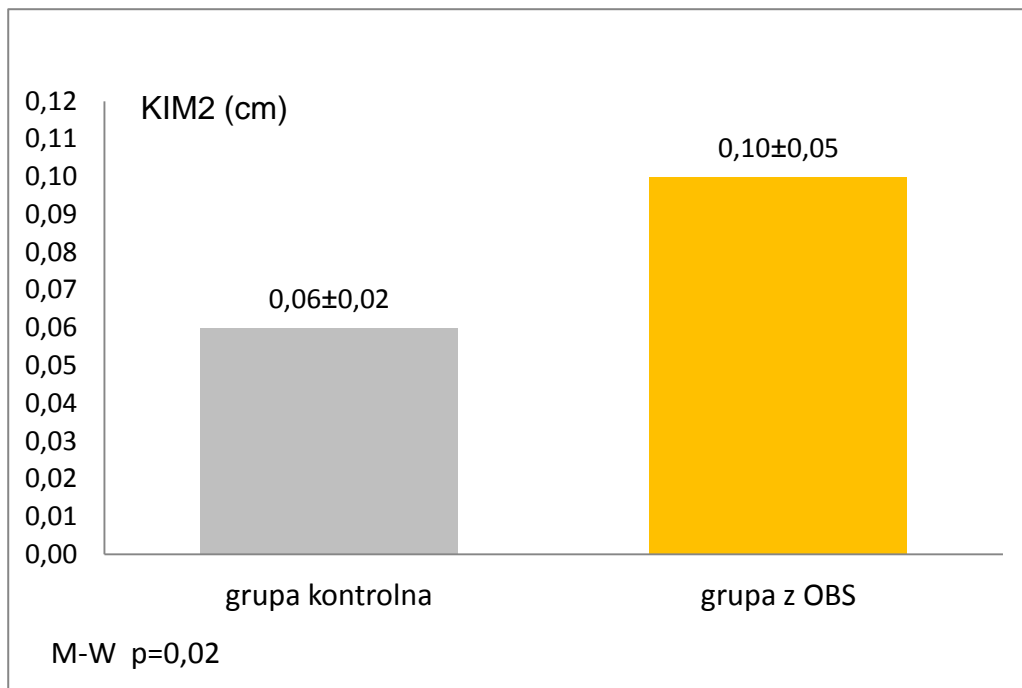
Stwierdzono podwyższoną wartość KIM1 w grupie osób z OBS – 0,09 $\pm$ 0,03 cm w stosunku do grupy kontrolnej – 0,06  $\pm$  0,01 cm, p=0,02 (ryc. 15). Podobnie oceniono wartość KIM2, uzyskując odpowiednio w grupie badanej wartość – 0,10  $\pm$ 0,05 cm, natomiast w grupie kontrolnej – 0,06  $\pm$  0,02 cm, p=0,02 (ryc. 16).

**Tabela 7.** Ocena istotności różnic pomiędzy wartościami KIM w grupie badanej i kontrolnej test U Manna – Whitney’a.

	Suma rang	Suma rang	U	Z	poziom p	Z popraw.	poziom p
<b>KIM1(cm)</b>	2630	610	400	2,22	0,03	2,25	0,02
<b>KIM2(cm)</b>	2642	598	388	2,36	0,02	2,39	0,02



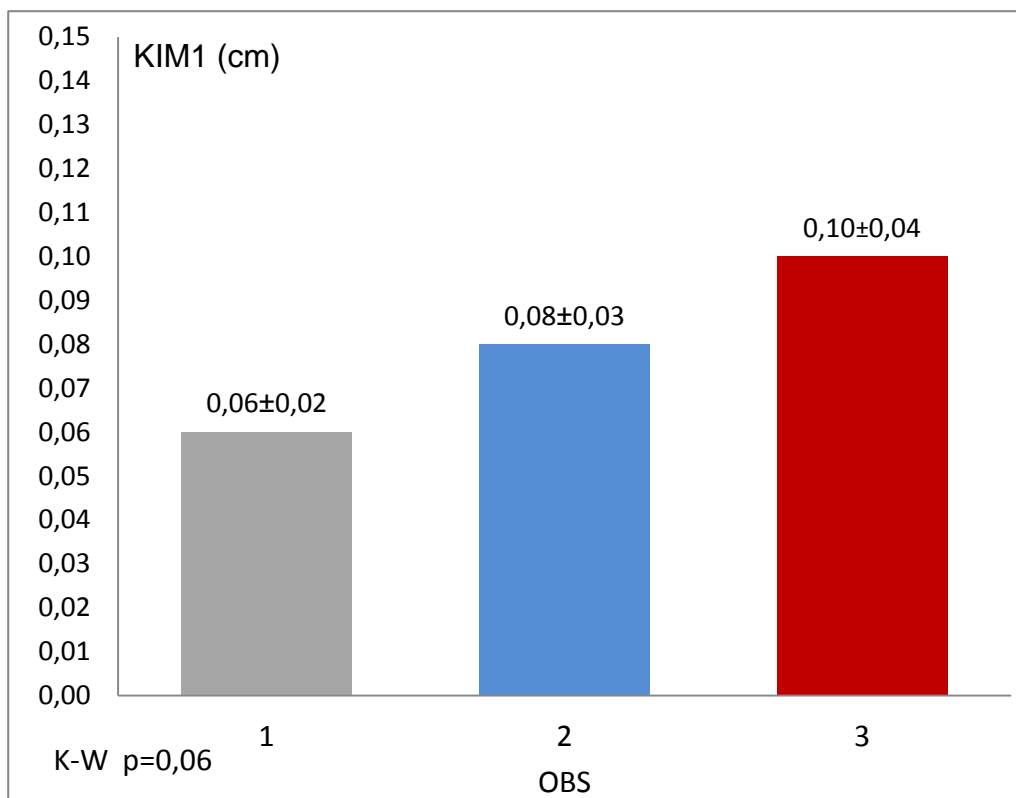
**Ryc. 15.** Różnice pomiędzy KIM 1 w grupie kontrolnej i badanej.



Ryc. 16. Różnice pomiędzy KIM 2 w grupie kontrolnej i badanej.

**4.3.2.2. Ocena różnic pomiędzy grubością kompleksu intima – media w tętnicy szyjnej wspólnej prawej (KIM1) i lewej (KIM2) w grupie badanej w poszczególnych stopniach zaawansowania obturacyjnego bezdechu sennego**

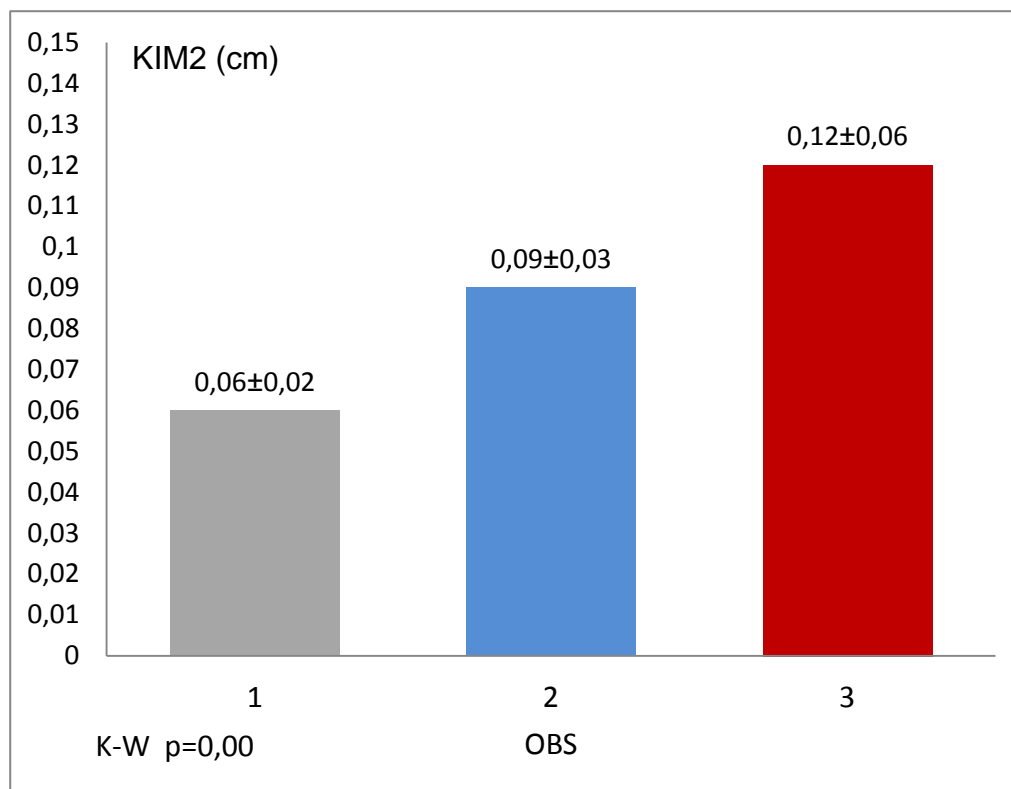
Przedstawiono różnice pomiędzy KIM1 (ryc. 17) oraz KIM2 (ryc. 18) w poszczególnych stopniach zaawansowania OBS. Stwierdzono różnicę na granicy istotności statystycznej w zakresie grubości KIM1 między OBS 1 vs OBS 3,  $p=0,05$  (ryc. 17). Zaobserwowano również statystycznie znamienne różnice w zakresie KIM2 w grupach OBS 1 vs OBS 3,  $p=0,00$  oraz OBS 2 vs OBS 3,  $p=0,01$ , co obrazuje ryc. 18.



**Ryc. 17.** Różnice pomiędzy KIM 1 w poszczególnych stopniach zaawansowania choroby: OBS-1, OBS-2, OBS-3 testem Kruskala-Wallis i *post hoc* testem Dunna (tabela 8).

**Tabela 8.** Test Kruskala-Wallis z testem Dunna dla ryc.17.

KIM2	Test <i>post hoc</i> Dunna		
	OBS 1	OBS 2	OBS 3
OBS 1		0,61	0,05
OBS 2	0,61		0,32
OBS 3	0,05	0,32	



**Ryc. 18.** Różnice pomiędzy KIM 2 w poszczególnych stopniach zaawansowania choroby: OBS-1, OBS- 2, OBS-3 testem Kruskala-Wallisa i *post hoc* testem Dunna (tabela 9).

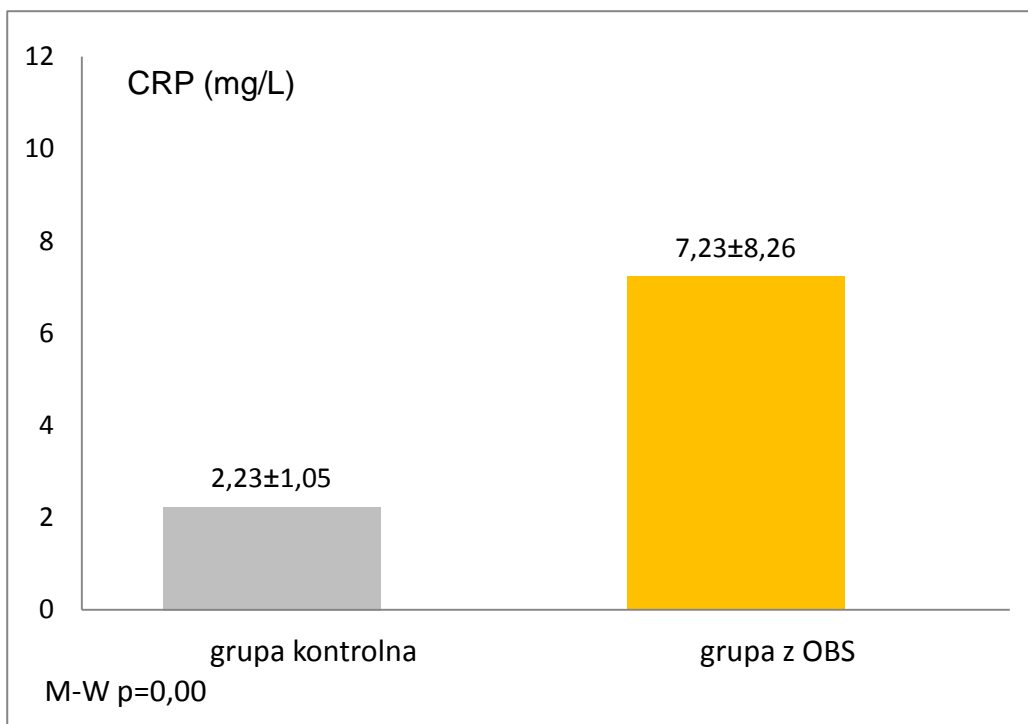
**Tabela 9.** Test Kruskala-Wallisa z testem Dunna dla ryc.18.

KIM2	Test <i>post hoc</i> Dunna		
	OBS 1	OBS 2	OBS 3
OBS 1		0,32	0,00
OBS 2	0,32		0,01
OBS 3	0,00	0,01	

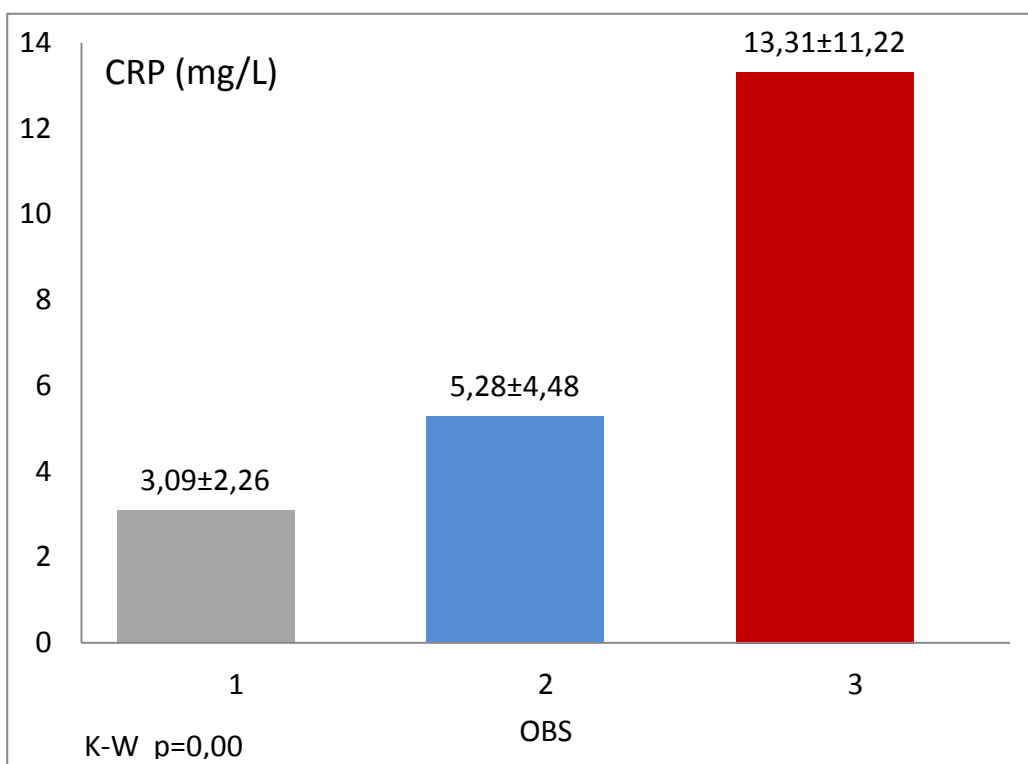
### 4.3.3. Ocena parametrów stanu zapalnego

#### 4.3.3.1. Białko C-reaktywne (hs CRP)

Dokonano oceny różnic między wartością CRP w grupie badanej i kontrolnej oraz pomiędzy stężeniami CRP w poszczególnych stopniach bezdechu – różnice przedstawiono na ryc. 19 i ryc. 20. Stwierdzono istotne statystycznie różnice w zakresie stężenia CRP pomiędzy grupą badaną a kontrolną oraz pomiędzy podgrupami wyodrębnionymi na podstawie stopnia bezdechu.



Ryc. 19. Wartość stężenia CRP w grupie kontrolnej i w grupie badanej.



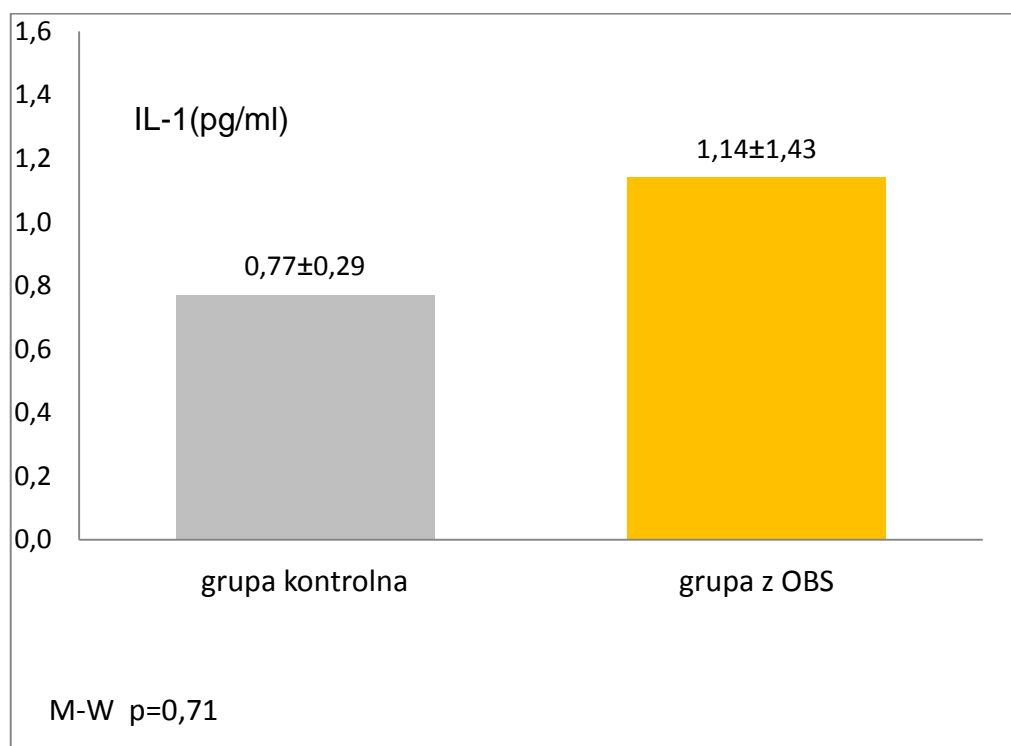
Ryc. 20. Wartość stężenia CRP w grupie badanej w poszczególnych stopniach bezdechu: OBS-1, OBS-2, OBS-3 testem Kruskala-Wallis i *post hoc* testem Dunna (tabela 10).

**Tabela 10.** Test Kruskala-Wallisa z testem Dunna dla ryc. 20.

CRP	Test <i>post hoc</i> Dunna		
	OBS 1	OBS 2	OBS 3
OBS 1		0,59	0,00
OBS 2	0,59		0,00
OBS 3	0,00	0,00	

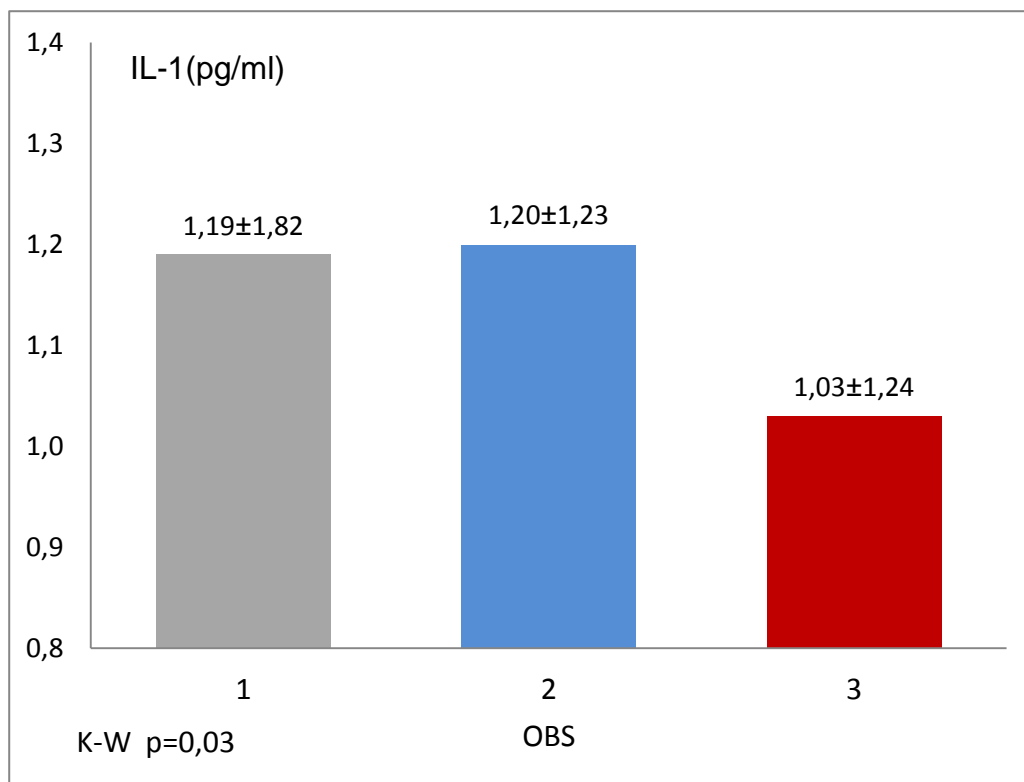
#### 4.3.3.2. Interleukina 1 (IL-1)

Dokonano oceny różnic między wartością stężenia IL-1 w grupie badanej i kontrolnej oraz pomiędzy stężeniami IL-1 w poszczególnych stopniach bezdechu, co prezentują ryc. 21 i ryc. 22. Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy w zakresie stężenia IL-1 pomiędzy grupą badaną a kontrolną, natomiast różnica na granicy istotności statystycznej była obserwowana pomiędzy podgrupami wyodrębnionymi na podstawie stopnia nasilenia OBS: OBS 1 vs OBS 3,  $p=0,05$ .



**Ryc. 21.** Wartość stężenia IL-1 w grupie kontrolnej i w grupie badanej.





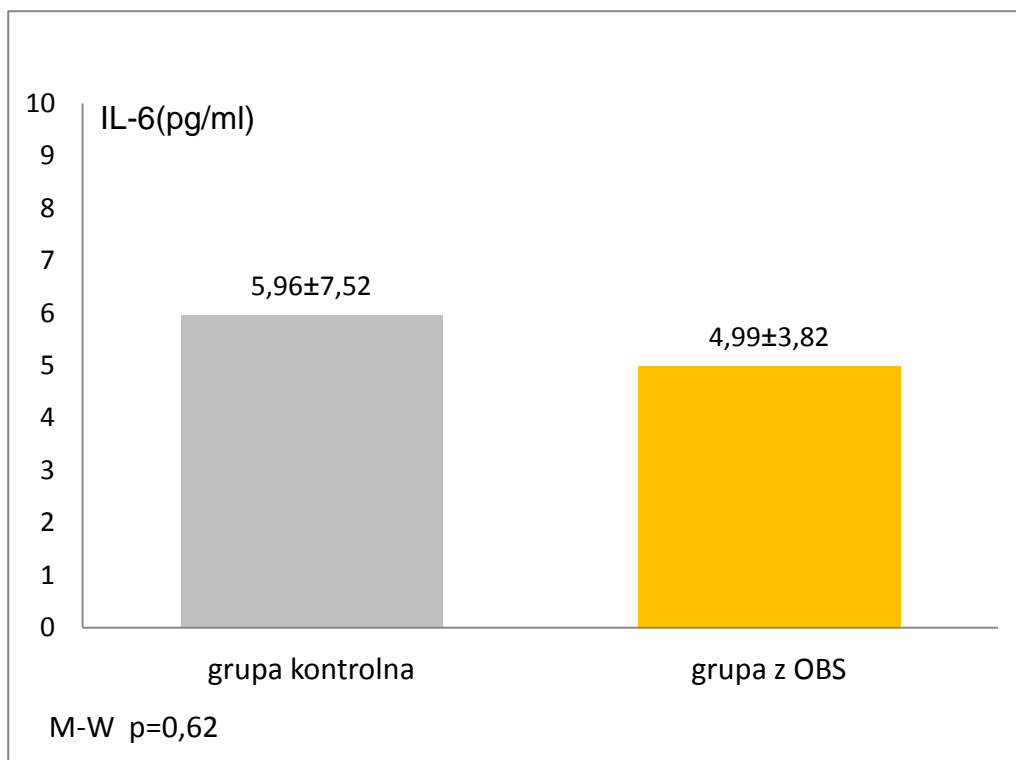
**Ryc. 22.** Wartość stężenia IL-1 w grupie badanej w poszczególnych stopniach bezdechu: OBS-1, OBS-2, OBS-3 testem Kruskala-Wallisa i *post hoc* testem Dunna (tabela 11).

**Tabela 11.** Test Kruskala-Wallisa z testem Dunna dla ryc.22.

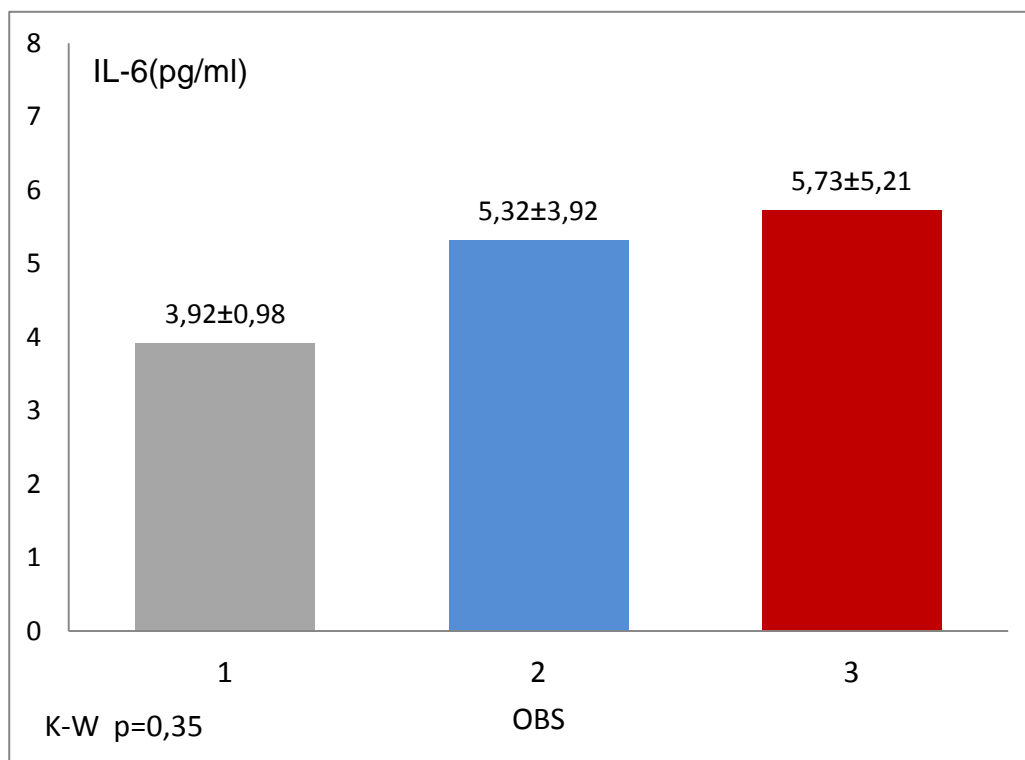
Il-1	Test <i>post hoc</i> Dunna		
	OBS 1	OBS 2	OBS 3
OBS 1		0,48	0,05
OBS 2	0,48		0,94
OBS 3	0,05	0,94	

#### 4.3.3.3. Interleukina 6 (IL-6)

Zobrazowano również różnice między wartościami stężeń IL-6 w grupie badanej i kontrolnej oraz w poszczególnych stopniach bezdechu - różnice te przedstawiono na ryc. 23 i ryc. 24. Nie stwierdzono znamienych statystycznie różnic w zakresie stężenia IL-6 pomiędzy grupą badaną a kontrolną. Uwidoczniono trend w zakresie wzrostu stężeń IL-6 pomiędzy podgrupami wyodrębnionymi na podstawie stopnia zaawansowania OBS.



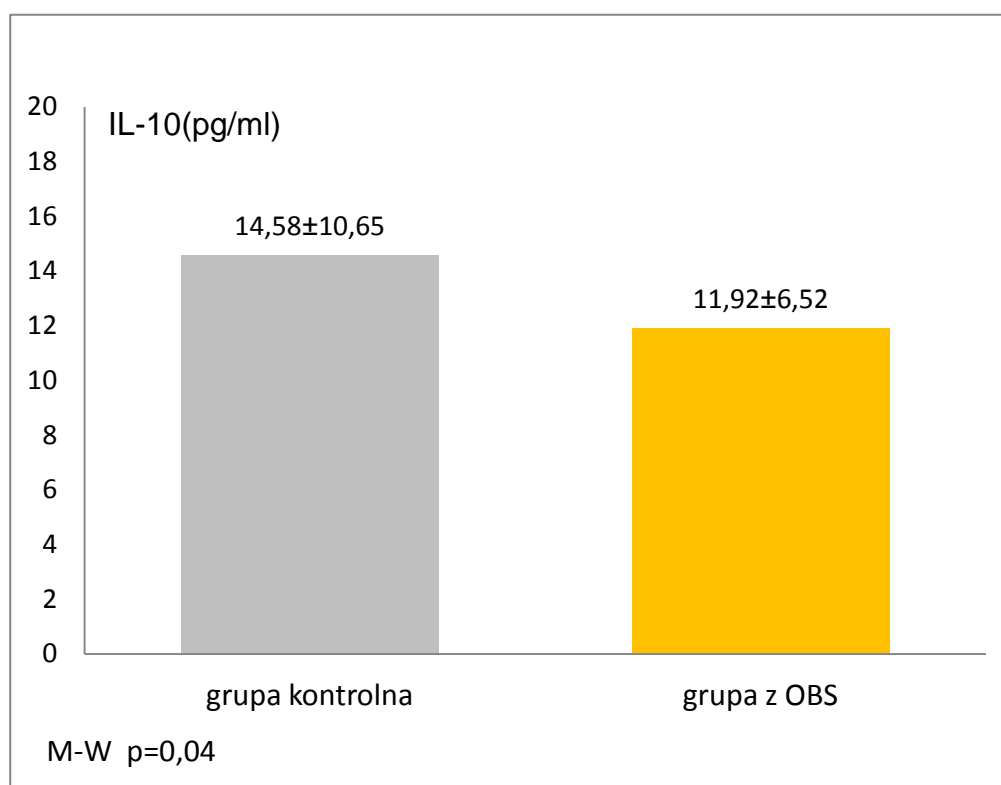
**Ryc. 23.** Wartość stężenia IL-6 w grupie kontrolnej i w grupie badanej.



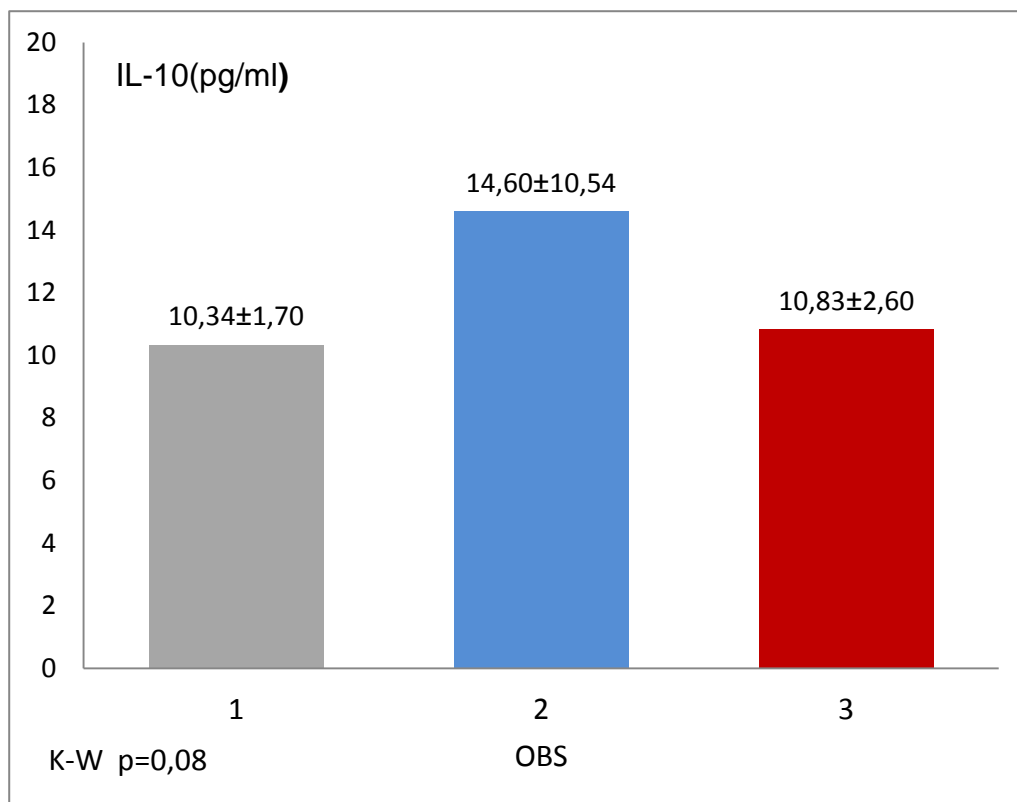
**Ryc. 24.** Wartość stężenia IL-6 w grupie badanej w poszczególnych stopniach bezdechu: OBS-1, OBS-2, OBS-3 testem Kruskala-Wallis.

#### 4.3.3.4. Interleukina 10 (IL-10)

Oznaczono stężenie IL-10 i dokonano oceny różnicy pomiędzy wartościami stężeń IL-10 w grupie badanej i kontrolnej oraz w poszczególnych stopniach zaawansowania OBS. Stwierdzono różnicę na granicy istotności statystycznej w zakresie stężenia IL-10 pomiędzy podgrupami wyodrębnionymi na podstawie stopnia bezdechu (najwyższe stężenie IL-10 obserwowano w umiarkowanym stopniu bezdechu) - ryc. 26. Różnica istotna statystycznie była widoczna pomiędzy grupą badaną a kontrolną ( $p=0,04$ ), co obrazuje ryc. 25.



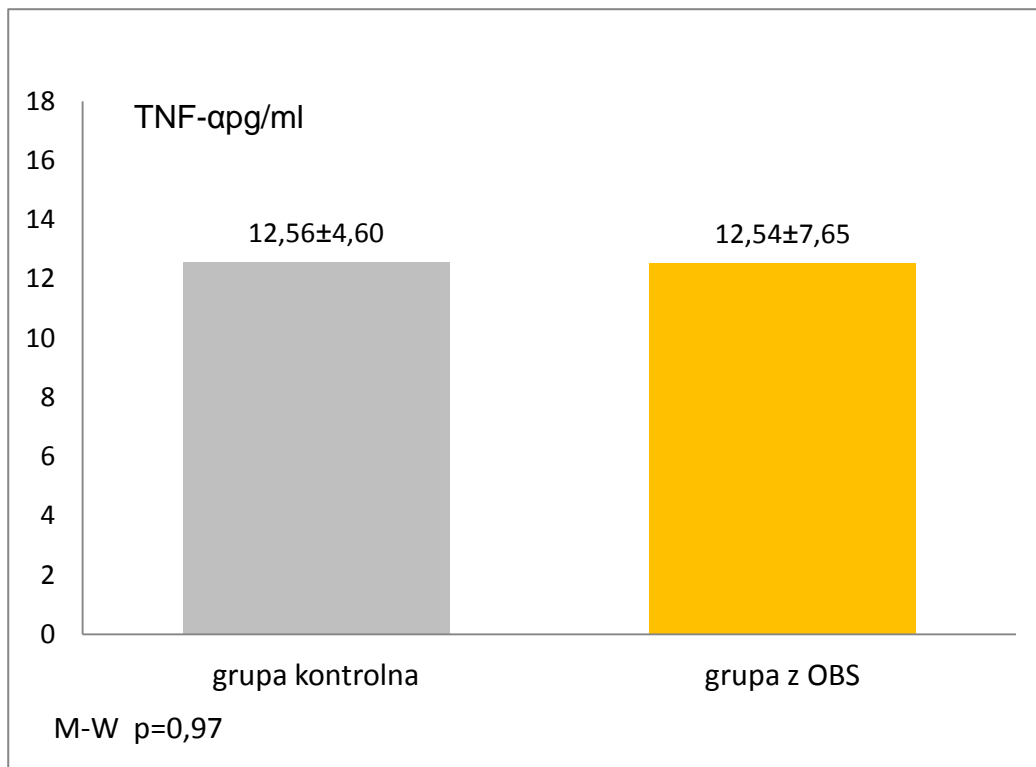
Ryc. 25. Histogram przedstawiający wartość stężenia IL-10 w grupie kontrolnej i w grupie badanej.



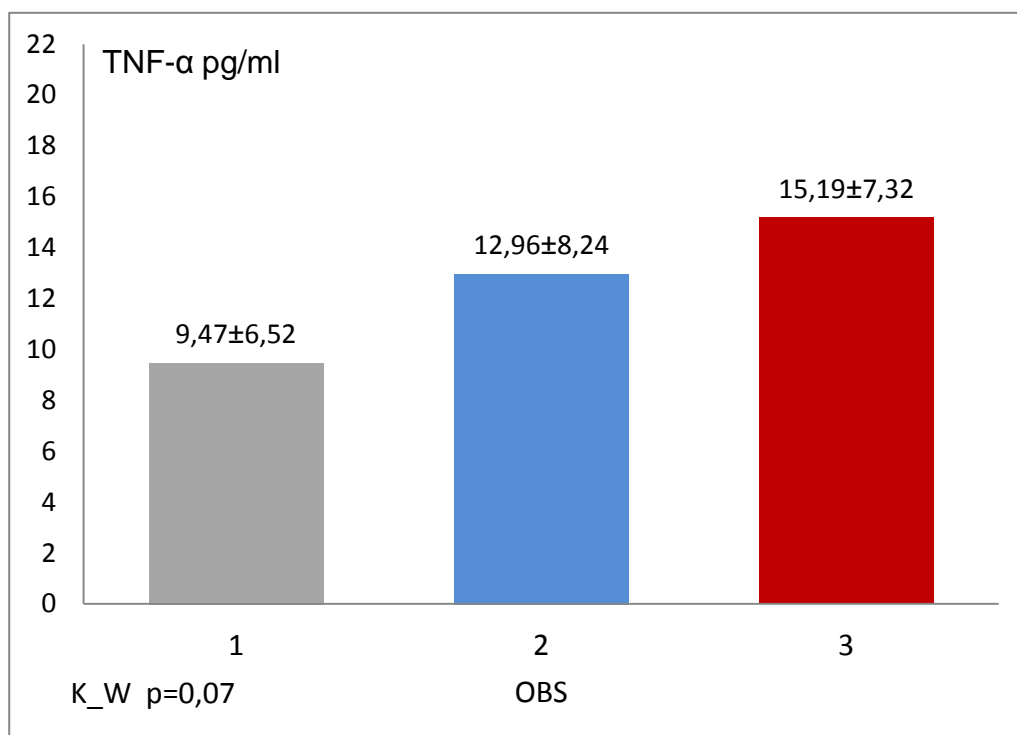
**Ryc. 26.** Histogram przedstawiający wartość stężenia IL-10 w grupie badanej w poszczególnych stopniach bezdechu: OBS-1, OBS-2, OBS-3 testem Kruskala-Wallisa.

#### 4.3.3.5. Czynniki martwicy guza- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )

Przedstawiono różnice między wartościami stężeń TNF- $\alpha$  w grupie badanej i kontrolnej oraz w poszczególnych stopniach zaawansowania OBS. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w zakresie wartości stężenia TNF- $\alpha$  pomiędzy grupą badaną a kontrolną, co obrazuje ryc. 27. Wykazano wzrost stężenia TNF- $\alpha$  na granicy istotności statystycznej pomiędzy podgrupami wyodrębnionymi na podstawie stopnia zaawansowania, który przedstawiono na ryc. 28.



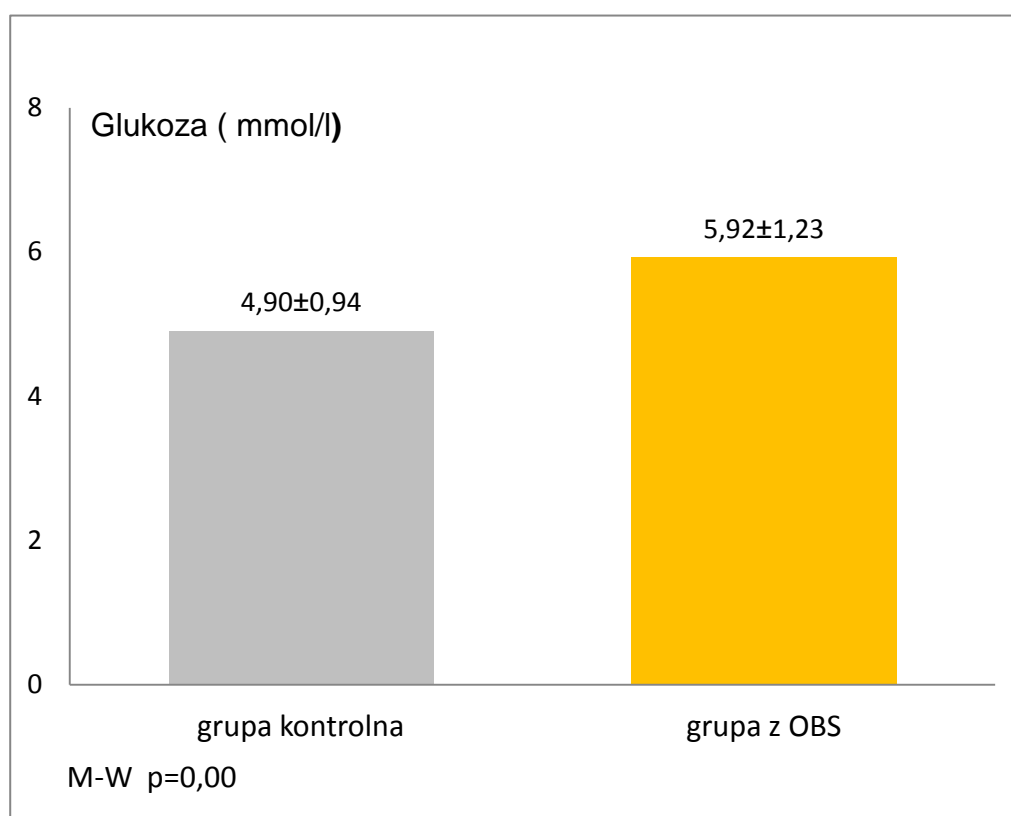
**Ryc. 27.** Wartość stężenia TNF- $\alpha$  w grupie kontrolnej i w grupie badanej.



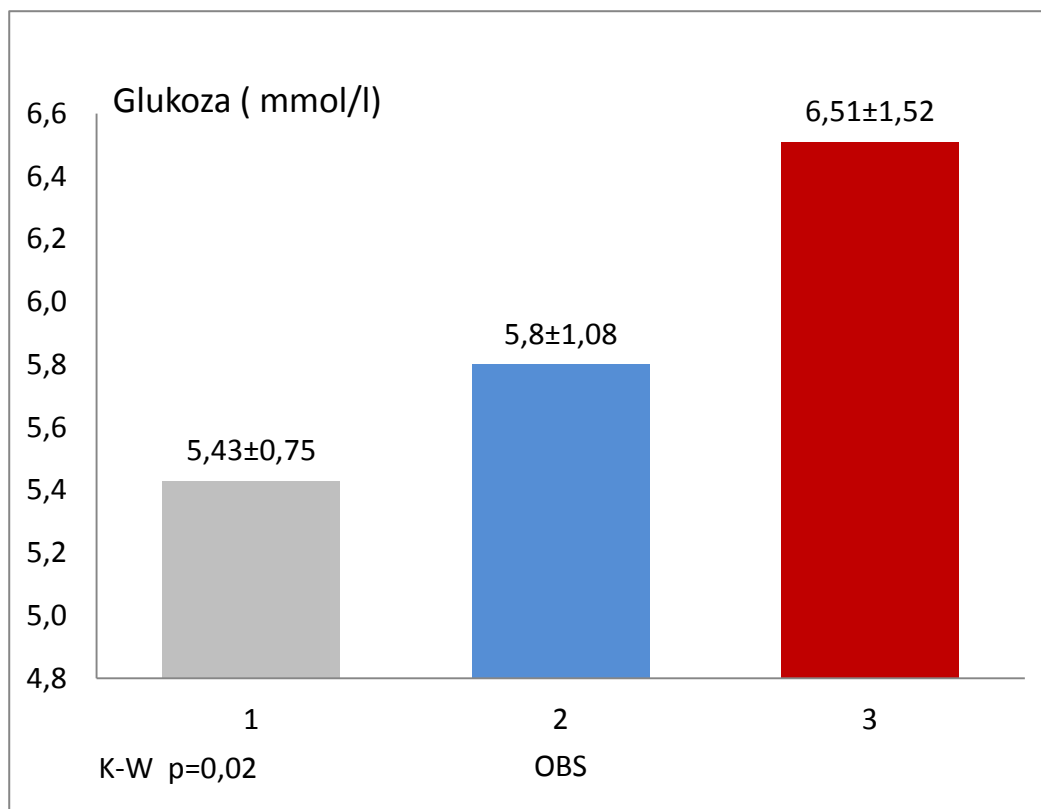
**Ryc. 28.** Wartość stężenia TNF- $\alpha$  w grupie badanej w poszczególnych stopniach bezdechu: OBS-1, OBS-2, OBS-3 testem Kruskala-Wallis.

#### 4.3.3.6. Stężenie glukozy

Oceniono stężenie glukozy w grupie badanej i kontrolnej. Na histogramach zamieszczono różnice pomiędzy grupą badaną i kontrolną oraz między poszczególnymi stopniami zaawansowania OBS, które zobrazowano na ryc. 29 i ryc. 30. Stwierdzono istotne statystycznie różnice w zakresie stężenia glukozy pomiędzy grupą badaną a kontrolną;  $p = 0,00$  (ryc. 29) oraz pomiędzy podgrupami wyodrębnionymi na podstawie stopnia nasilenia OBS: OBS 1 vs OBS 3;  $p=0,01$  (ryc. 30).



**Ryc. 29.** Wartość stężenia glukozy w grupie kontrolnej i w grupie badanej.



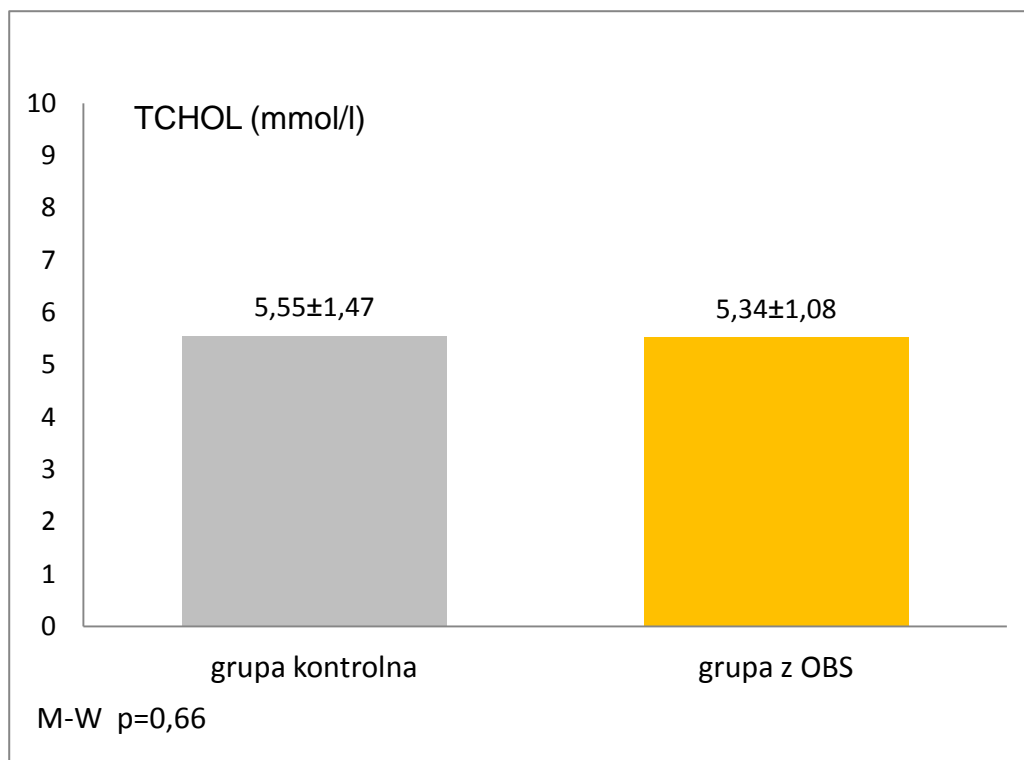
**Ryc. 30.** Wartość stężenia glukozy w grupie badanej w poszczególnych stopniach bezdechu: OBS-1, OBS-2, OBS-3 testem Kruskala-Wallisa i *post hoc* testem Dunna (tabela 12).

**Tabela 12.** Test Kruskala-Wallisa z testem Dunna dla ryc. 30

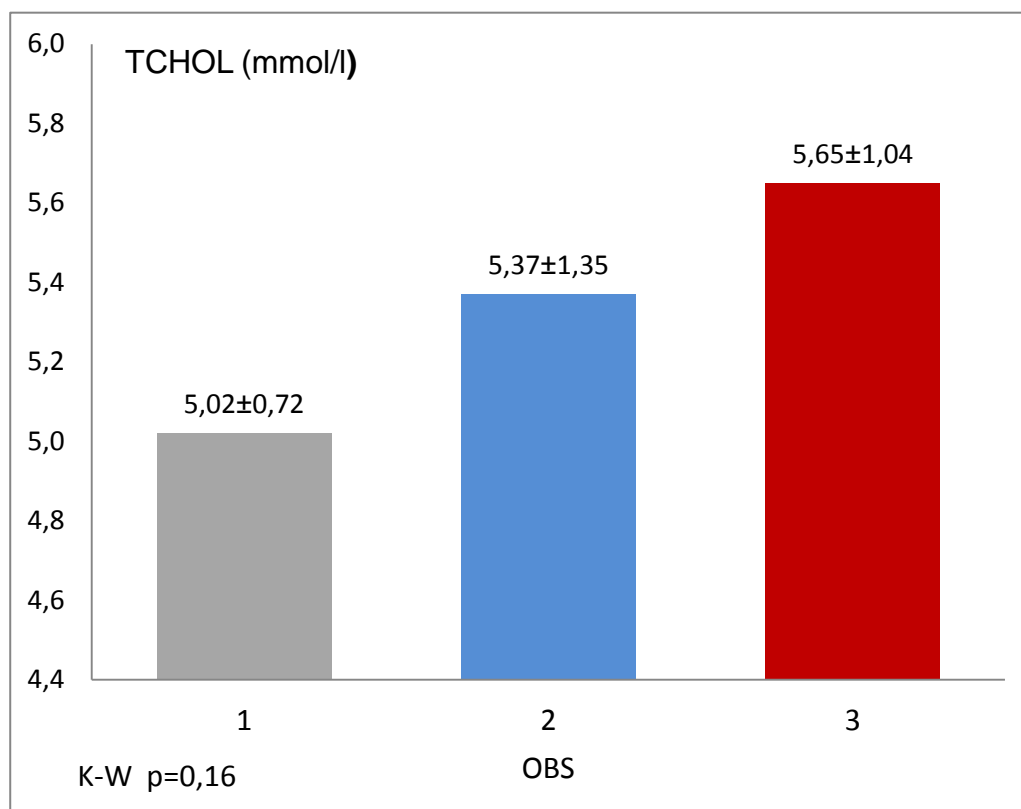
glukoza	Test <i>post hoc</i> Dunna		
	OBS 1	OBS 2	OBS 3
OBS 1		0,57	0,01
OBS 2	0,57		0,14
OBS 3	0,01	0,14	

#### 4.3.3.7. Stężenie cholesterolu całkowitego - TCHOL

Dokonano również oceny stężenia TCHOL w grupie badanej i kontrolnej. Na histogramach zobrazowano różnice pomiędzy grupą badaną i kontrolną oraz między poszczególnymi stopniami nasilenia choroby – ryc. 31 i ryc. 32. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w stężeniu TCHOL pomiędzy grupą badaną a kontrolną;  $p = 0,66$  (ryc. 31), natomiast obserwowany był trend dotyczący wzrostu stężenia TCHOL w podgrupach wyodrębnionych na podstawie stopnia bezdechu (ryc. 32).



**Ryc. 31** Wartość stężenia cholesterolu całkowitego: TCHOL w grupie kontrolnej i w grupie badanej.

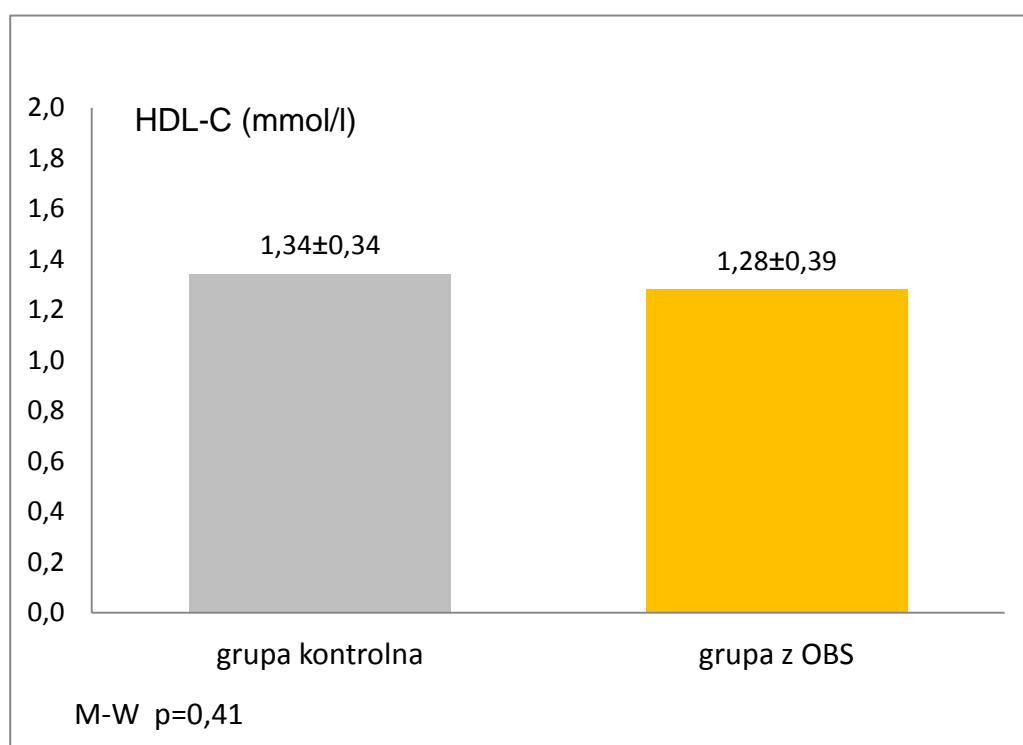


**Ryc. 32.** Wartość stężenia cholesterolu całkowitego: TCHOL w grupie badanej w poszczególnych stopniach bezdechu: OBS-1, OBS-2, OBS-3 testem Kruskala-Wallis.

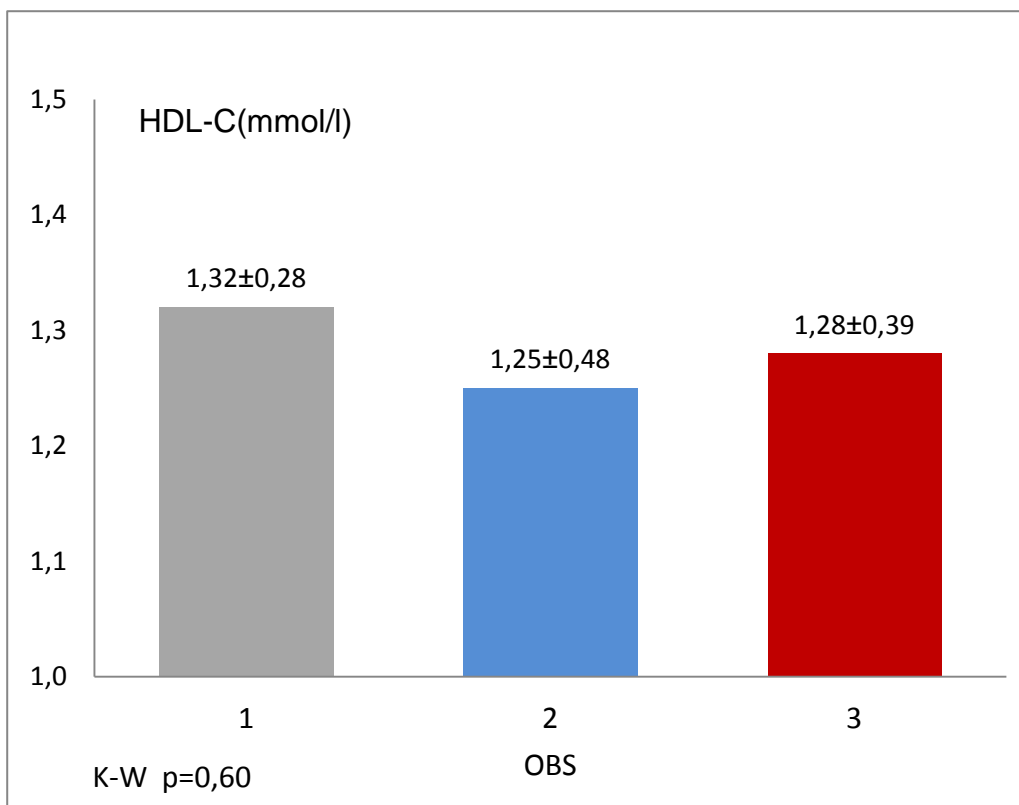


#### 4.3.3.8. Stężenie cholesterolu frakcji HDL (HDL-C)

Dokonano również oceny stężenia HDL-C w grupie badanej i kontrolnej. Na histogramach zobrazowano różnice pomiędzy grupą badaną i kontrolną oraz między poszczególnymi stopniami zaawansowania OBS – ryc. 33 i ryc. 34. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w stężeniu HDL-C pomiędzy grupą badaną a kontrolną;  $p=0,41$  (ryc. 33) oraz pomiędzy podgrupami wyodrębnionymi na podstawie stopnia nasilenia OBS (ryc. 34).



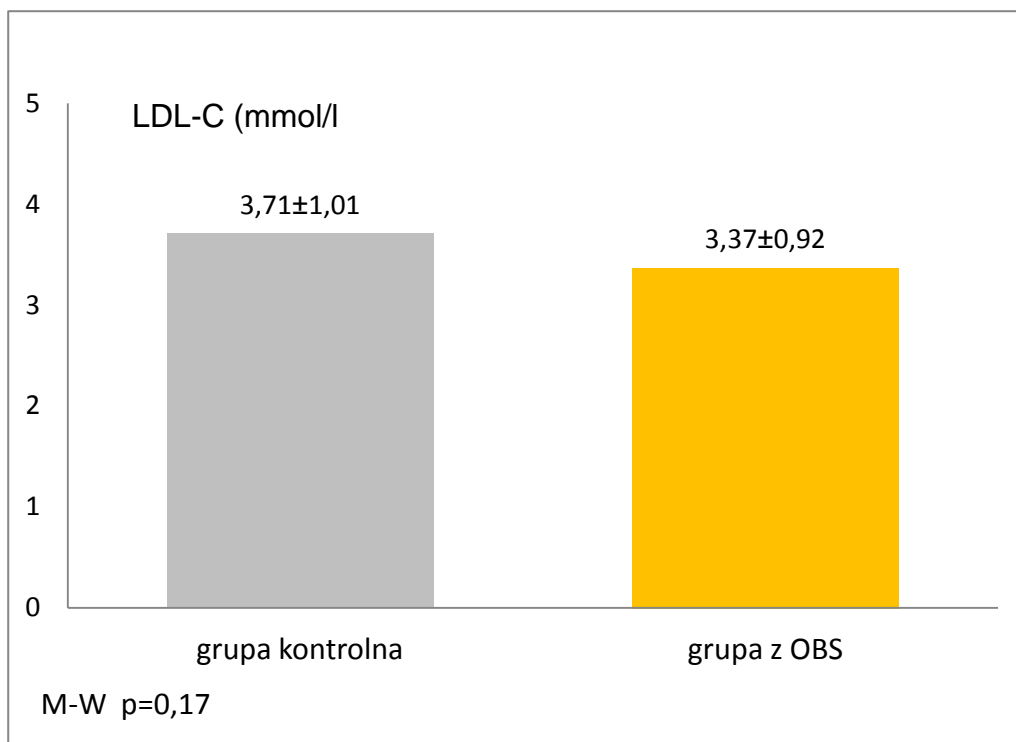
Ryc. 33. Wartość stężenia cholesterolu frakcji HDL: HDL-C w grupie kontrolnej i w grupie badanej.



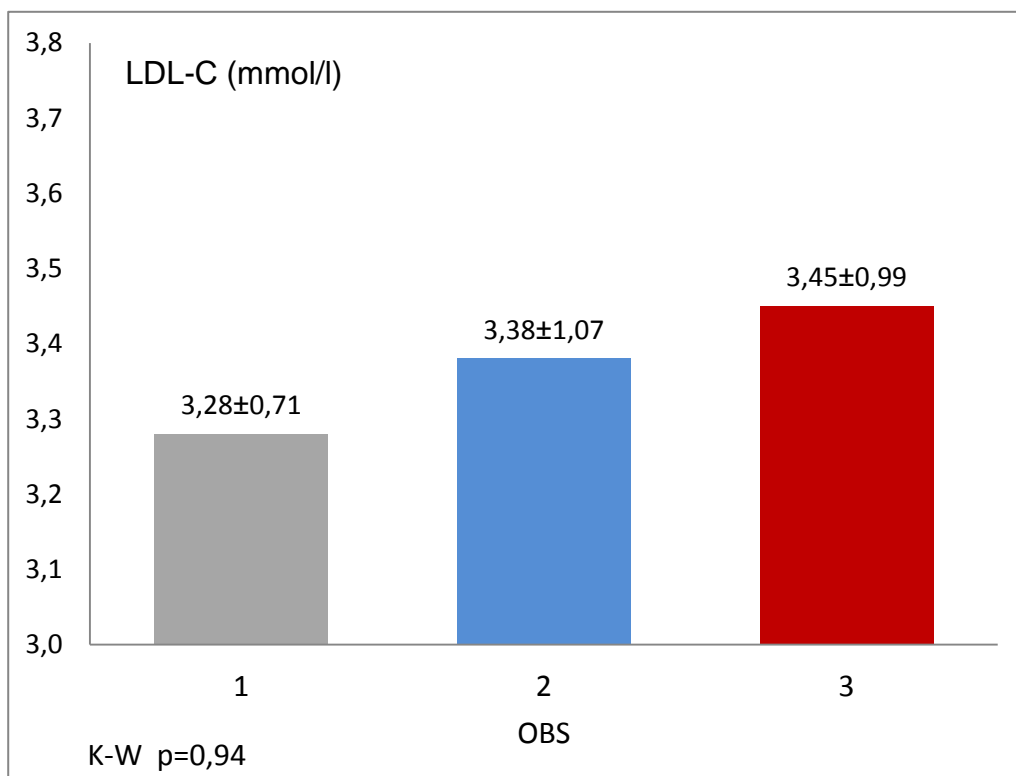
**Ryc. 34.** Wartość stężenia cholesterolu frakcji HDL: HDL-C w grupie badanej w poszczególnych stopniach bezdechu: OBS-1, OBS-2, OBS-3 testem Kruskala-Wallisa.

#### 4.3.3.9. Stężenie cholesterolu frakcji LDL (LDL-C)

Oceniono stężenie LDL-C i różnice pomiędzy wartościami w grupie badanej i kontrolnej. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w stężeniu LDL-C pomiędzy grupą badaną a kontrolną;  $p=0,17$ , co obrazuje ryc. 35. Przedstawiono trend w zakresie wzrostu stężenia LDL-C pomiędzy podgrupami wyodrębnionymi na podstawie stopnia nasilenia schorzenia, widoczny na ryc. 36.



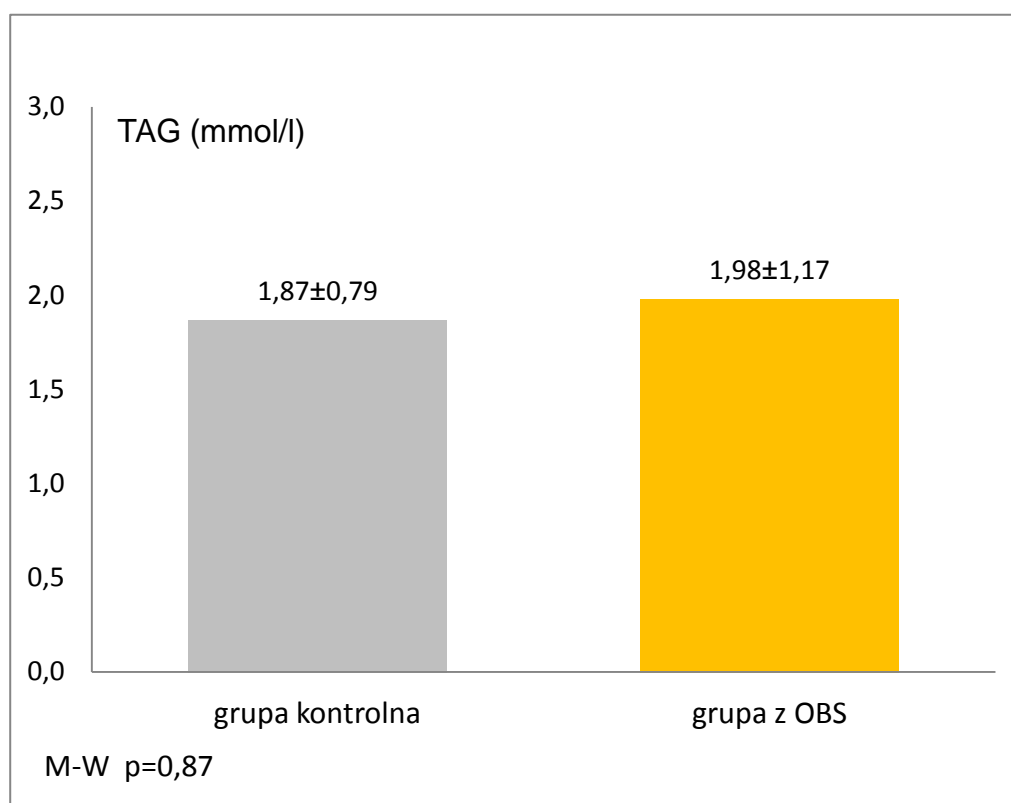
**Ryc. 35.** Wartość stężenia cholesterolu frakcji LDL: LDL-C w grupie kontrolnej i w grupie badanej.



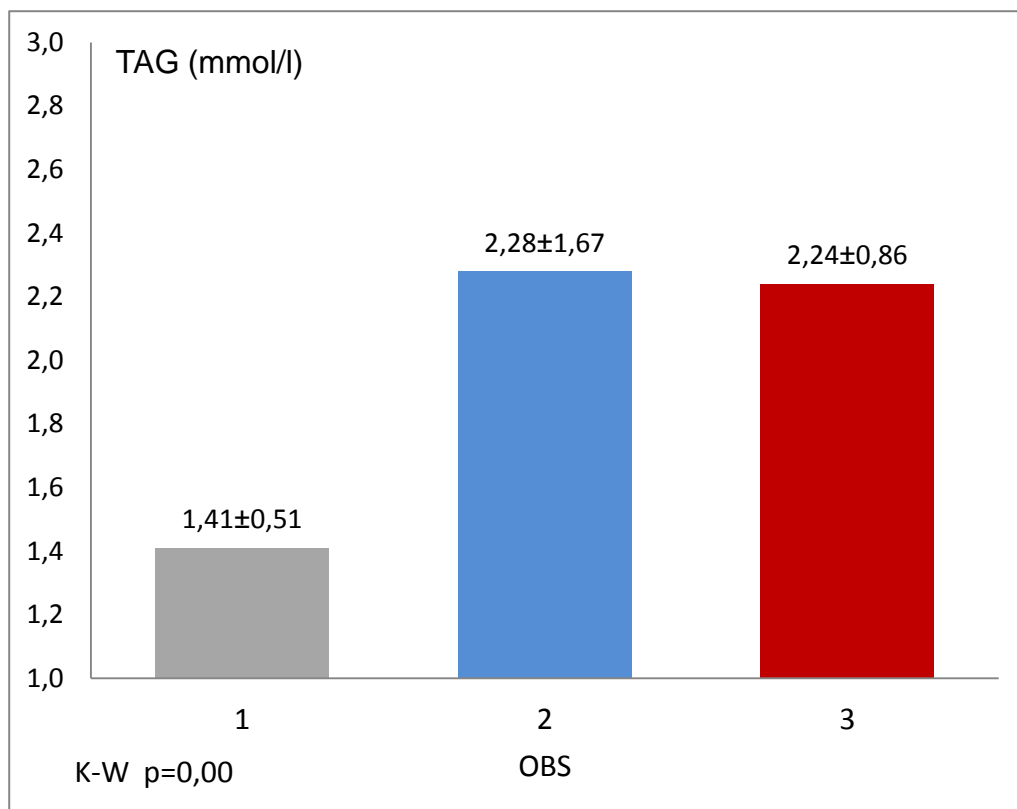
**Ryc. 36.** Wartość stężenia cholesterolu frakcji LDL: LDL-C w grupie badanej w poszczególnych stopniach zaawansowania schorzenia: OBS-1, OBS-2, OBS-3 testem Kruskala-Wallis.

#### 4.3.3.10. Stężenie triglicerydów – TAG

Dokonano również oceny stężenia TAG w grupie badanej i kontrolnej. Na histogramach zobrazowano różnice pomiędzy grupą badaną i kontrolną oraz między poszczególnymi stopniami OBS. Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy w zakresie stężenia TAG pomiędzy grupą badaną a kontrolną;  $p=0,87$ , co przedstawia ryc. 37. Znamienne statystycznie różnica była widoczna pomiędzy podgrupami wyodrębnionymi na podstawie stopnia zaawansowania choroby: OBS 1 vs OBS 2;  $p=0,04$  (ryc. 38).



Ryc. 37. Wartość stężenia triglicerydów: TAG w grupie kontrolnej i w grupie badanej.



**Ryc. 38.** Wartość stężenia triglicerydów: TAG w grupie badanej w poszczególnych stopniach bezdechu: OBS-1, OBS-2, OBS-3 testem Kruskala-Wallisa i *post hoc* testem Dunna (tabela 13).

**Tabela 13.** Test Kruskala-Wallisa z testem Dunna dla ryc. 38.

TAG	Test <i>post hoc</i> Dunna		
	OBS 1	OBS 2	OBS 3
OBS 1		0,04	0,06
OBS 2	0,04		0,99
OBS 3	0,06	0,99	

#### 4.4. Korelacje w badanych grupach

##### 4.4.1. Ocena korelacji pomiędzy wartościami (KIM 1) i (KIM 2) a analizowanymi parametrami

Dokonano oceny korelacji pomiędzy wartościami KIM 1 i KIM 2 a wskaźnikami AHI, BMI, parametrami stanu zapalnego, gospodarki węglowodanowej i lipidowej. Uzyskane wyniki zamieszczono w tabelach 14 i 15.

**Tabela 14.** Korelacje pomiędzy KIM1 a wybranymi parametrami w grupie z OBS i grupie kontrolnej.

parametry	Grupa z OBS		Grupa kontrolna	
	R	p=	R	p=
AHI & KIM1 (cm)	<b>0,45</b>	<b>0,01</b>	0,11	0,41
CRP (mg/L) & KIM1 (cm)	-0,04	0,82	0,05	0,73
Glukoza (mmol/l) & KIM1 (cm)	0,04	0,82	-0,02	0,90
TCHOL (mmol/l) & KIM1 (cm)	0,14	0,46	-0,21	0,11
HDL-C (mmol/l) & KIM1 (cm)	0,06	0,75	0,01	0,96
LDL-C (mmol/l) & KIM1 (cm)	0,06	0,75	-0,08	0,54
TAG (mmol/l) & KIM1 (cm)	0,15	0,41	-0,04	0,79
IL-1 (pg/ml) & KIM1 (cm)	-0,02	0,93	-0,01	0,94
IL-6 (pg/ml) & KIM1 (cm)	-0,01	0,94	0,03	0,83
IL-10 (pg/ml) & KIM1 (cm)	<b>-0,44</b>	<b>0,02</b>	0,17	0,22
TNF- $\alpha$ (pg/ml) & KIM1 (cm)	<b>0,57</b>	<b>0,00</b>	-0,20	0,14
BMI & KIM1 (cm)	<b>0,40</b>	<b>0,03</b>	0,06	0,68

Oznaczone współczynniki korelacji są istotne z  $p < 0,05$ .

**Tabela 15.** Korelacje pomiędzy KIM2 a wybranymi parametrami w grupie z OBS i grupie kontrolnej

parametry	Grupa z OBS		Grupa kontrolna	
	R	p=	R	p=
AHI & KIM2 (cm)	<b>0,73</b>	<b>0,00</b>	0,17	0,19
CRP (mg/L) & KIM2 (cm)	<b>0,38</b>	<b>0,04</b>	0,14	0,30
Glukoza (mmol/l) & KIM2 (cm)	0,24	0,21	0,10	0,46
TCHOL (mmol/l) & KIM2 (cm)	0,22	0,25	-0,08	0,55
HDL-C (mmol/l) & KIM2 (cm)	0,01	0,95	-0,07	0,59
LDL-C (mmol/l) & KIM2 (cm)	-0,01	0,94	-0,02	0,87
TAG (mmol/l) & KIM2 (cm)	0,26	0,16	0,10	0,45
IL-1 (pg/ml) & KIM2 (cm)	-0,24	0,21	-0,03	0,84
IL-6 (pg/ml) & KIM2 (cm)	0,21	0,27	0,04	0,79
IL-10 (pg/ml) & KIM2 (cm)	-0,21	0,26	0,15	0,26
TNF- $\alpha$ (pg/ml) & KIM2 (cm)	0,21	0,27	0,00	0,98
BMI & KIM2 (cm)	<b>0,39</b>	<b>0,04</b>	0,08	0,58

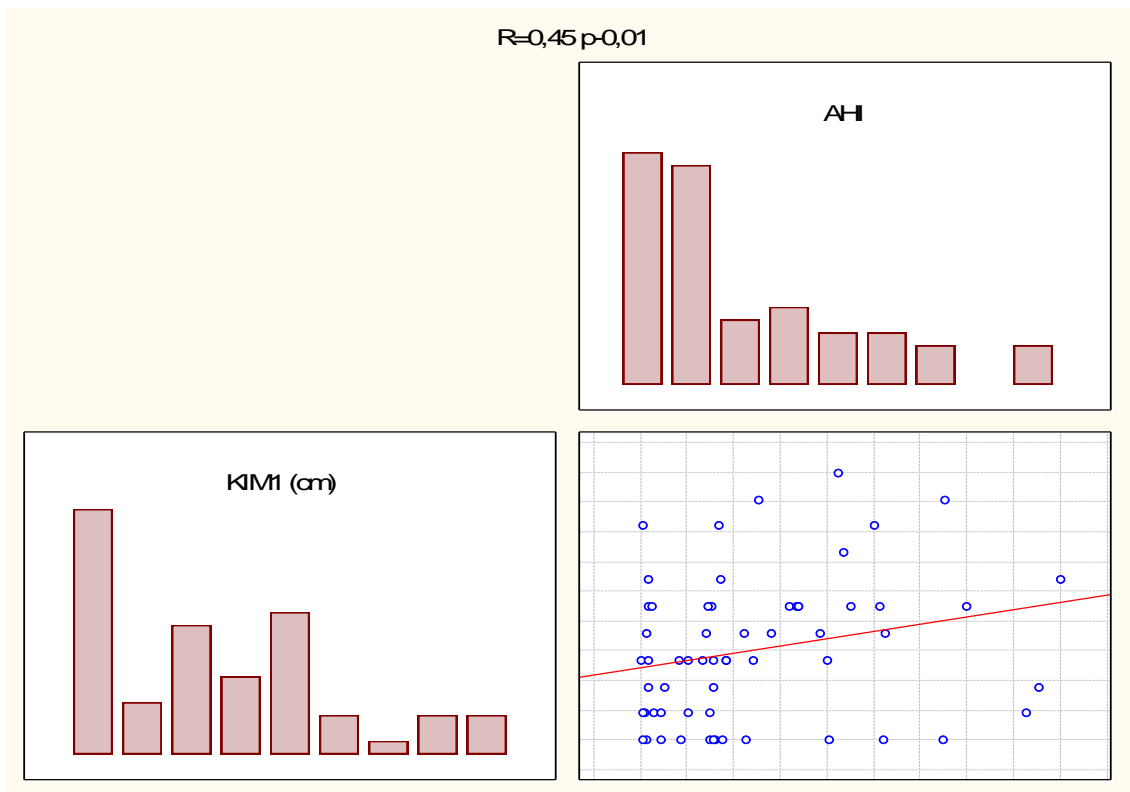
Oznaczone współczynniki korelacji są istotne z  $p < 0,05$ .

Dla bardziej szczegółowego zobrazowania istotnych statystycznie korelacji KIM1 i KIM2 z wybranymi zmiennymi zamieszczono ryciny (39-45).

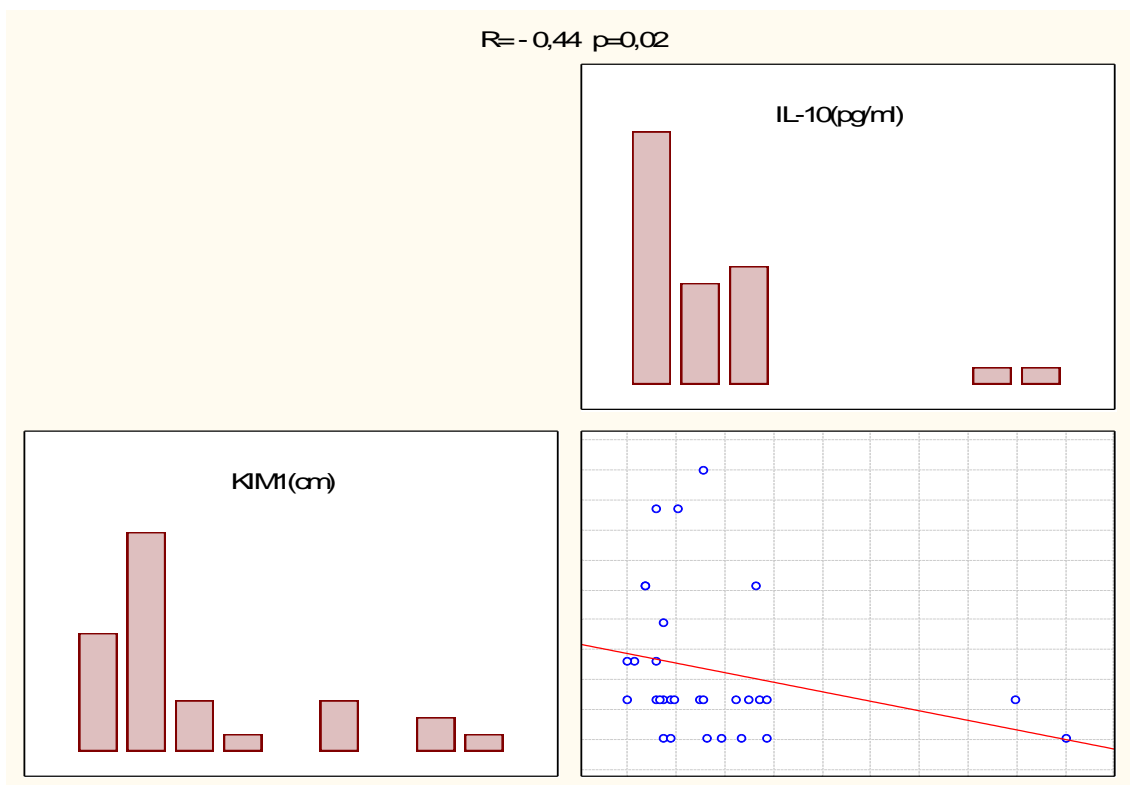
Każda rycina, to wykres macierzowy, będący połączeniem wykresu rozrzutu dwóch cech (linia regresji) i rozkładu każdej z nich w formie histogramu.

Stwierdzono dodatnią przeciętną korelację pomiędzy KIM1 a AHI (ryc. 39), KIM2 a CRP (ryc. 44), dodatnią wysoką pomiędzy KIM1 a TNF- $\alpha$  (ryc. 41)

oraz dodatnią bardzo wysoką pomiędzy KIM2 a AHI (ryc. 43). Wykryto ujemną przeciętną korelację pomiędzy KIM1 a IL-10 (ryc. 40). Pozostałe korelacje nie osiągnęły istotności statystycznej.

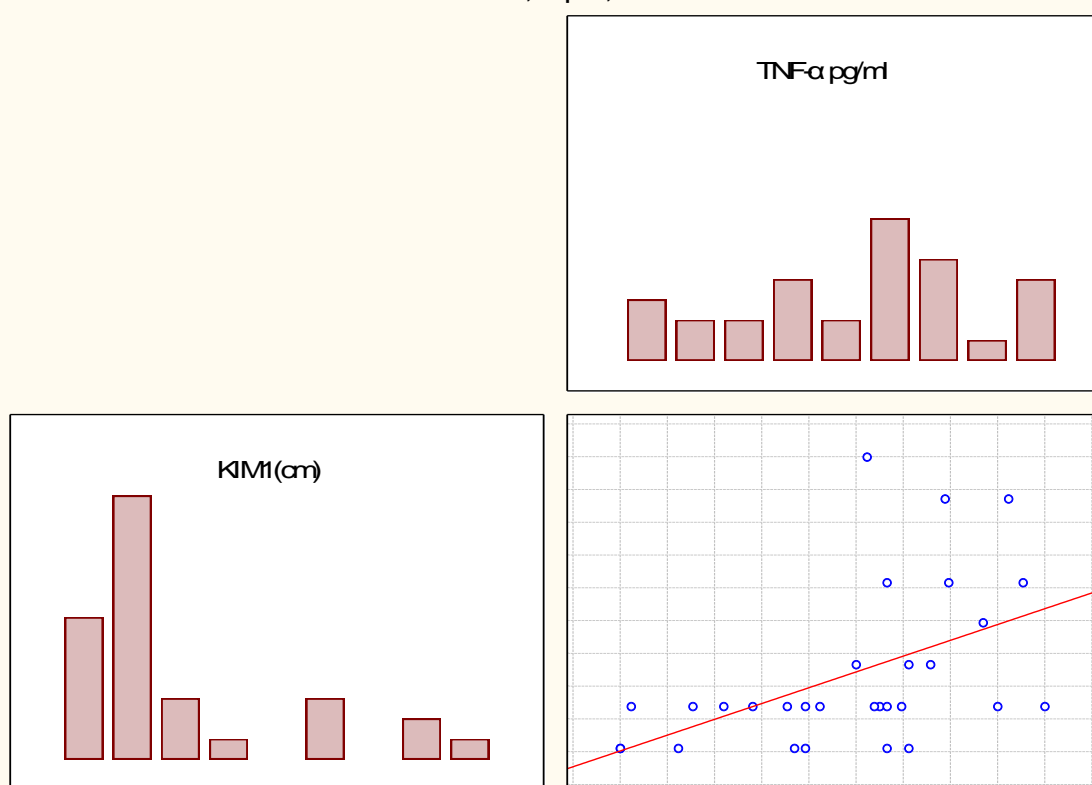


**Ryc. 39.** Korelacja pomiędzy KIM1 a AHI.



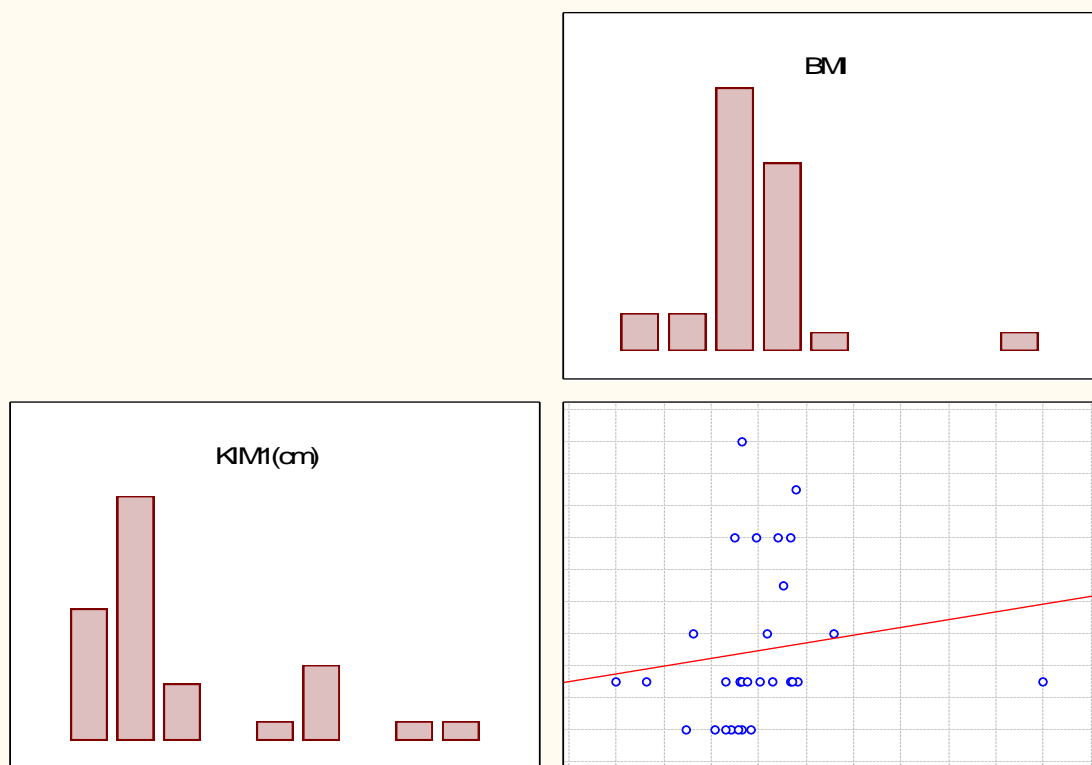
**Ryc. 40.** Korelacja pomiędzy KIM1 a IL-1.

R=0,57 p=0,00



Ryc. 41. Korelacja pomiędzy KIM1 a TNF -α.

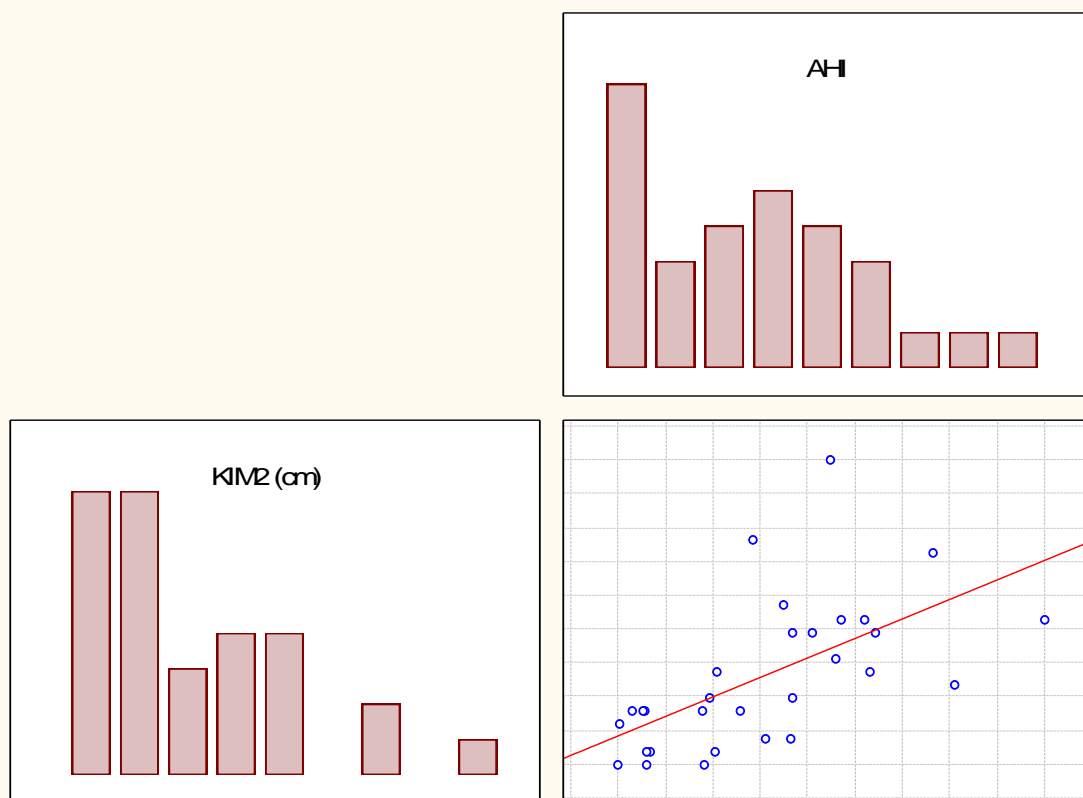
R=0,40 p=0,03



Ryc. 42. Korelacja pomiędzy KIM1 a BMI.

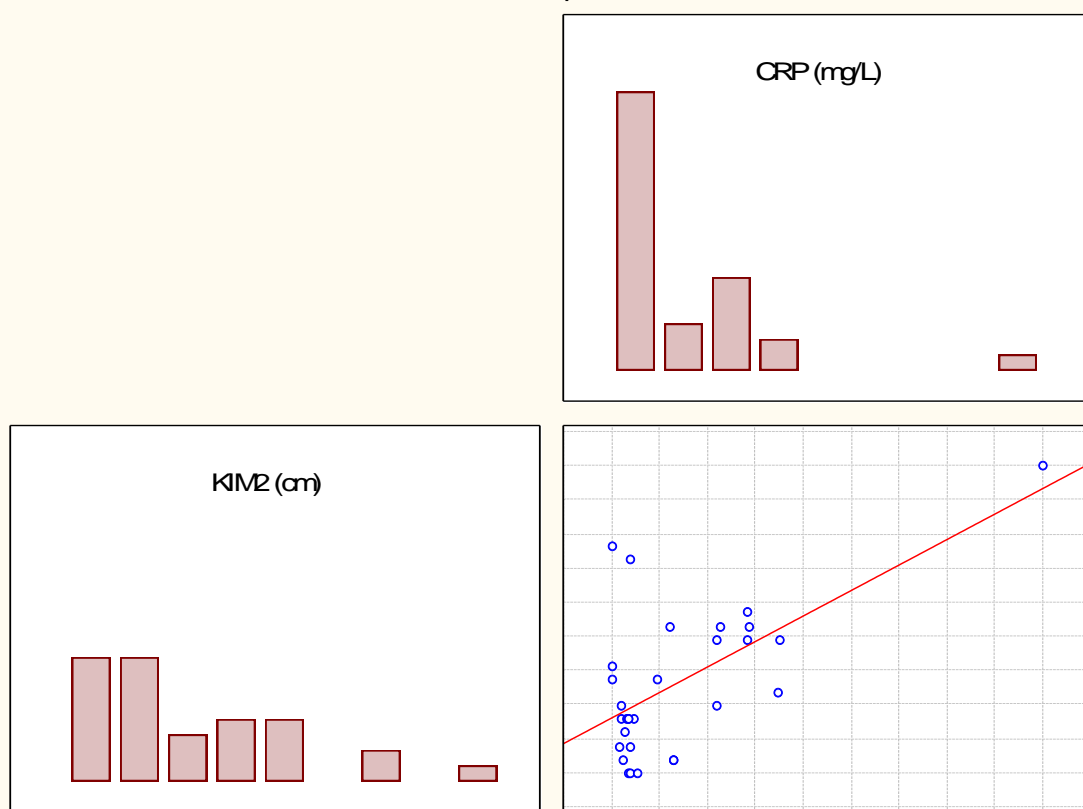


R=0,73 p=0,00

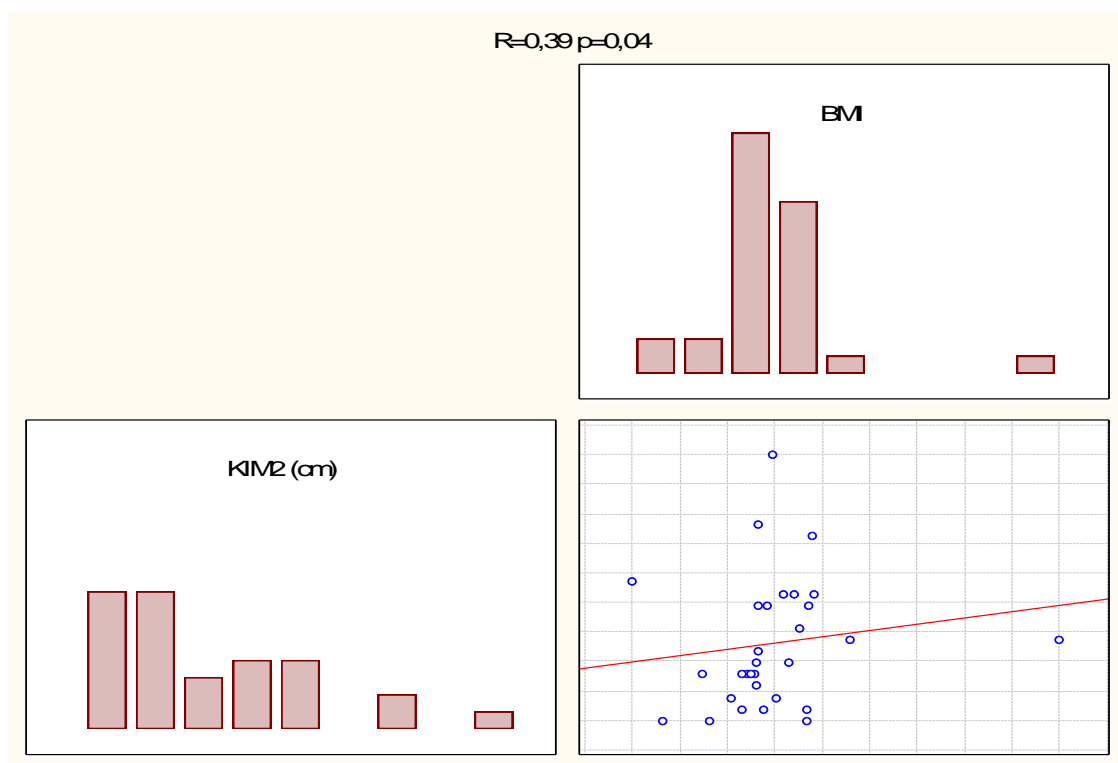


Ryc. 43. Korelacja pomiędzy KIM2 a AHI.

R=0,38 p=0,04



Ryc. 44. Korelacja pomiędzy KIM2 a CRP.



Ryc. 45. Korelacja pomiędzy KIM2 a BMI.

#### 4.4.2. Analiza związku pomiędzy parametrami stanu zapalnego a wybranymi zmiennymi: AHI, BMI i wiekiem

Dokonano oceny współzależności pomiędzy parametrami stanu zapalnego a wybranymi zmiennymi: AHI, BMI i wiekiem. Uzyskane wyniki zamieszczono w tabeli 16.

**Tabela 16.** Korelacje pomiędzy wiekiem, AHI i BMI a wybranymi parametrami w grupie z OBS i grupie kontrolnej.

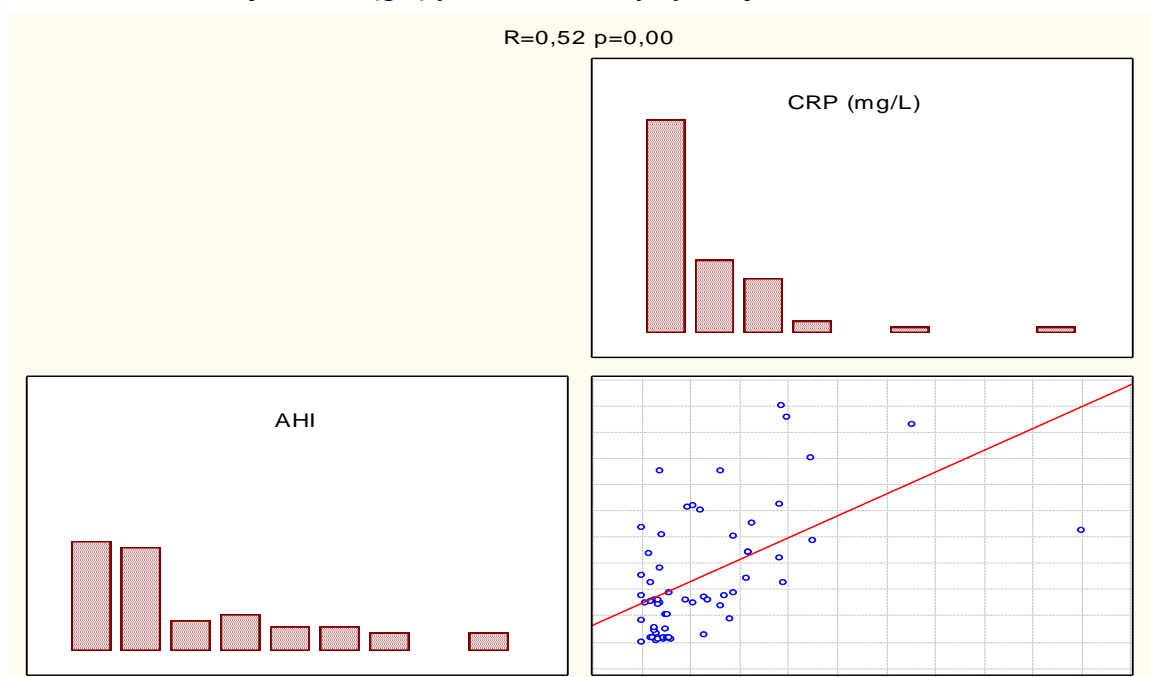
	Grupa z OBS		Grupa kontrolna	
	R	p=	R	p=
wiek & CRP (mg/L)	-0,04	0,76	0,24	0,32
wiek & Glukoza (mmol/l)	0,13	0,33	0,04	0,87
wiek & TCHOL (mmol/l)	-0,21	0,10	-0,08	0,74
wiek & HDL-C (mmol/l)	-0,00	0,99	0,24	0,32
wiek & LDL-C (mmol/l)	<b>-0,31</b>	<b>0,02</b>	-0,24	0,31
wiek & TAG (mmol/l)	-0,11	0,38	0,07	0,76
wiek & IL-1 (pg/ml)	0,17	0,21	0,04	0,86
wiek & IL-6 (pg/ml)	-0,02	0,88	-0,04	0,86
wiek & IL-10 (pg/ml)	0,07	0,58	-0,06	0,80
wiek & & TNF- $\alpha$ (pg/ml)	-0,04	0,76	-0,27	0,26
AHI & CRP (mg/L)	0,52	<b>0,00</b>		
AHI & Glukoza (mmol/l)	0,33	<b>0,01</b>		

AHI & TCHOL (mmol/l)	0,26	<b>0,05</b>		
AHI & HDL-C (mmol/l)	-0,10	0,44		
AHI & LDL-C (mmol/l)	0,01	0,96		
AHI & TAG (mmol/l)	0,49	<b>0,00</b>		
AHI & IL-1 (pg/ml)	0,22	0,10		
AHI & IL-6 (pg/ml)	0,06	0,64		
AHI & IL-10 (pg/ml)	0,17	0,19		
AHI & & TNF- $\alpha$ (pg/ml)	0,31	<b>0,01</b>		
BMI & CRP (mg/L)	<b>0,02</b>	0,85	0,26	0,27
BMI & Glukoza (mmol/l)	-0,12	0,36	0,11	0,64
BMI & TCHOL (mmol/l)	<b>-0,03</b>	0,83	-0,20	0,40
BMI & HDL-C (mmol/l)	-0,14	0,29	-0,28	0,23
BMI & LDL-C (mmol/l)	-0,12	0,38	-0,32	0,17
BMI & TAG (mmol/l)	<b>0,03</b>	0,84	0,11	0,64
BMI & IL-1 (pg/ml)	0,13	0,34	-0,21	0,37
BMI & IL-6 (pg/ml)	0,06	0,63	-0,25	0,29
BMI & IL-10 (pg/ml)	0,06	0,63	-0,08	0,72
BMI & & TNF- $\alpha$ (pg/ml)	0,14	0,28	-0,43	0,06

Dla bardziej szczegółowego zobrazowania istotnych statystycznie współzależności między AHI, BMI i wiekiem a wybranymi wskaźnikami stanu zapalnego zamieszczono ryciny (46-50).

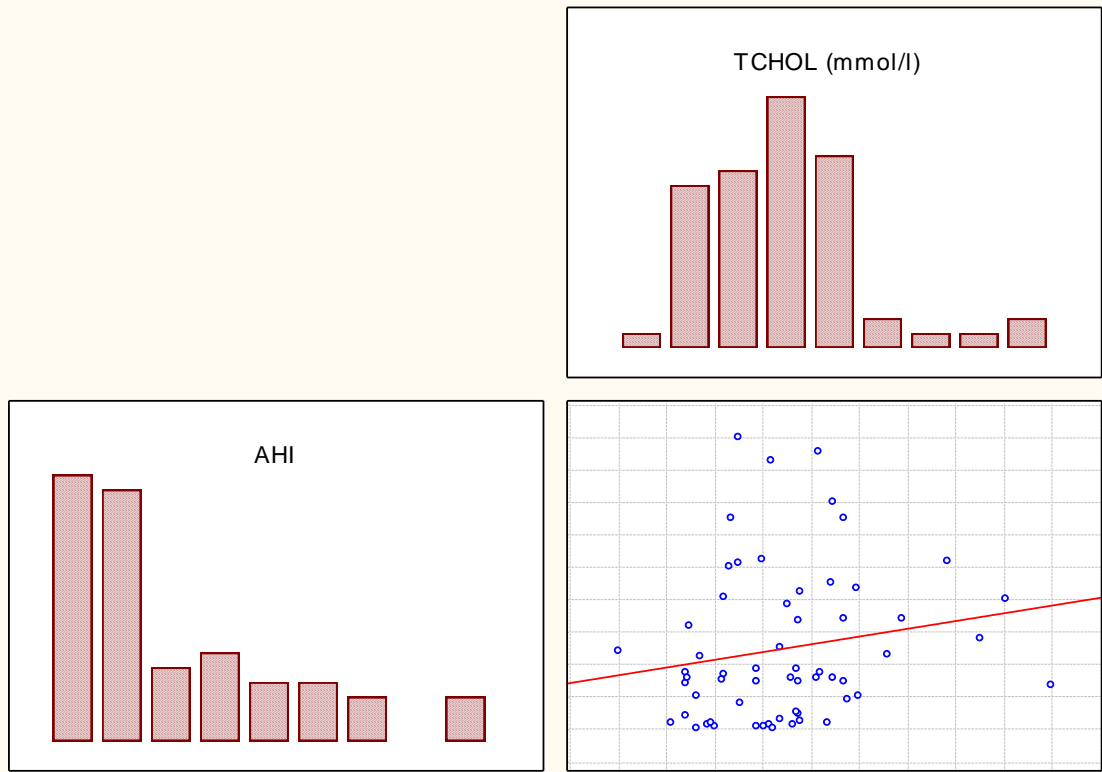
Stwierdzono dodatnią słabą korelację pomiędzy AHI a TCHOL (ryc. 47), dodatnią przeciętną zależność pomiędzy AHI a glukozą (ryc. 48), AHI a TAG (ryc. 49) i AHI a TNF- $\alpha$  (ryc. 50). Wykazano również dodatnią wysoką korelację pomiędzy AHI a CRP (ryc. 46).

Pozostałe korelacje nie osiągnęły istotności statystycznej.



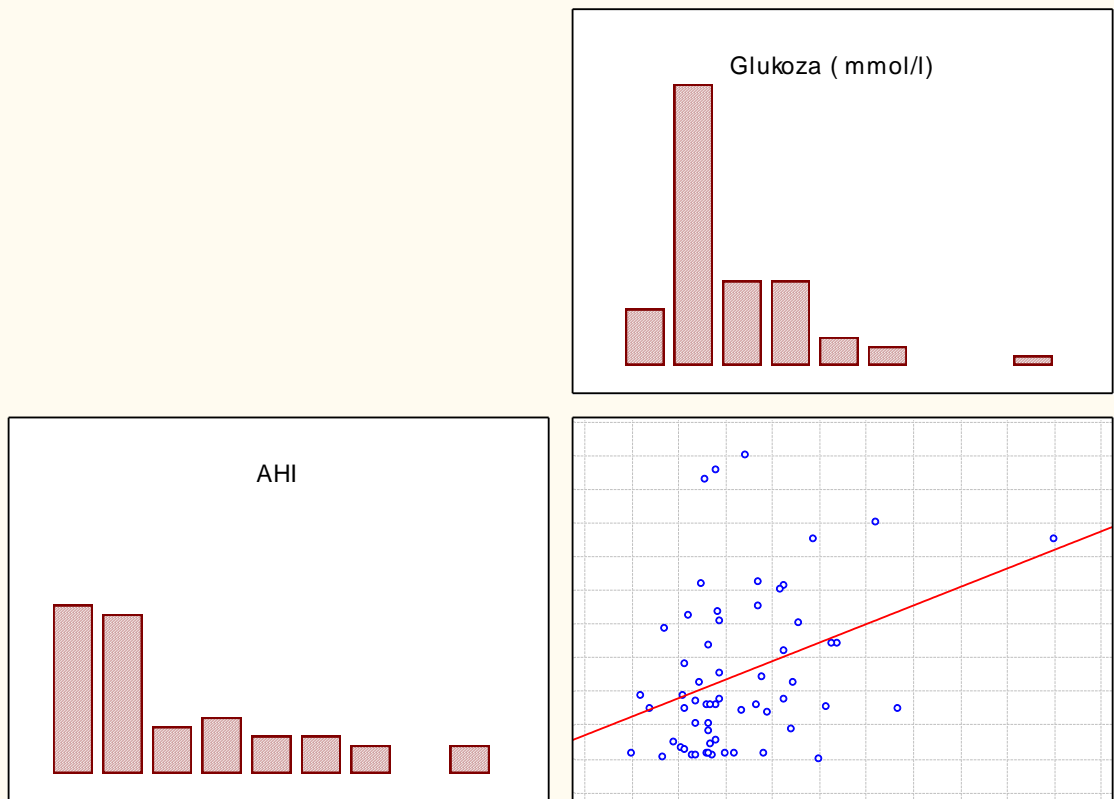
Ryc. 46. Korelacja pomiędzy AHI a CRP.

R = 0,26 p = 0,05

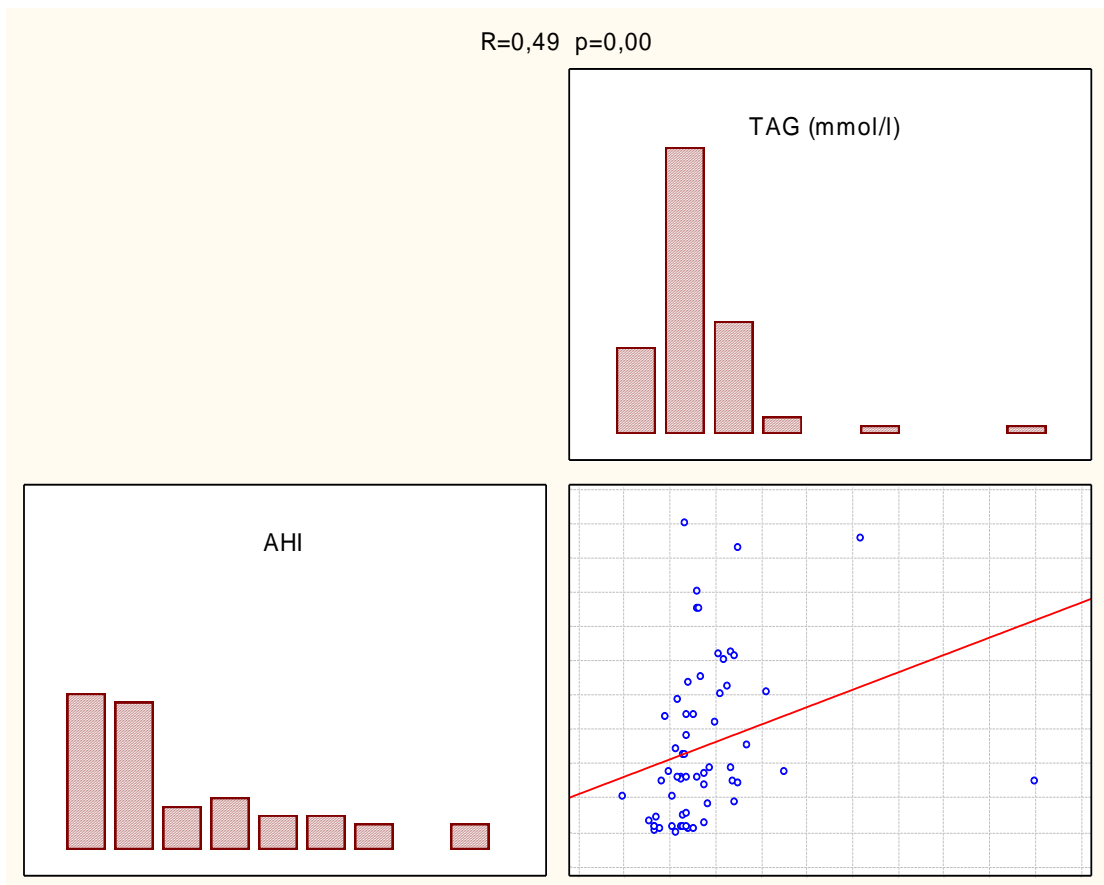


Ryc. 47. Korelacja pomiędzy AHI a TCHOL.

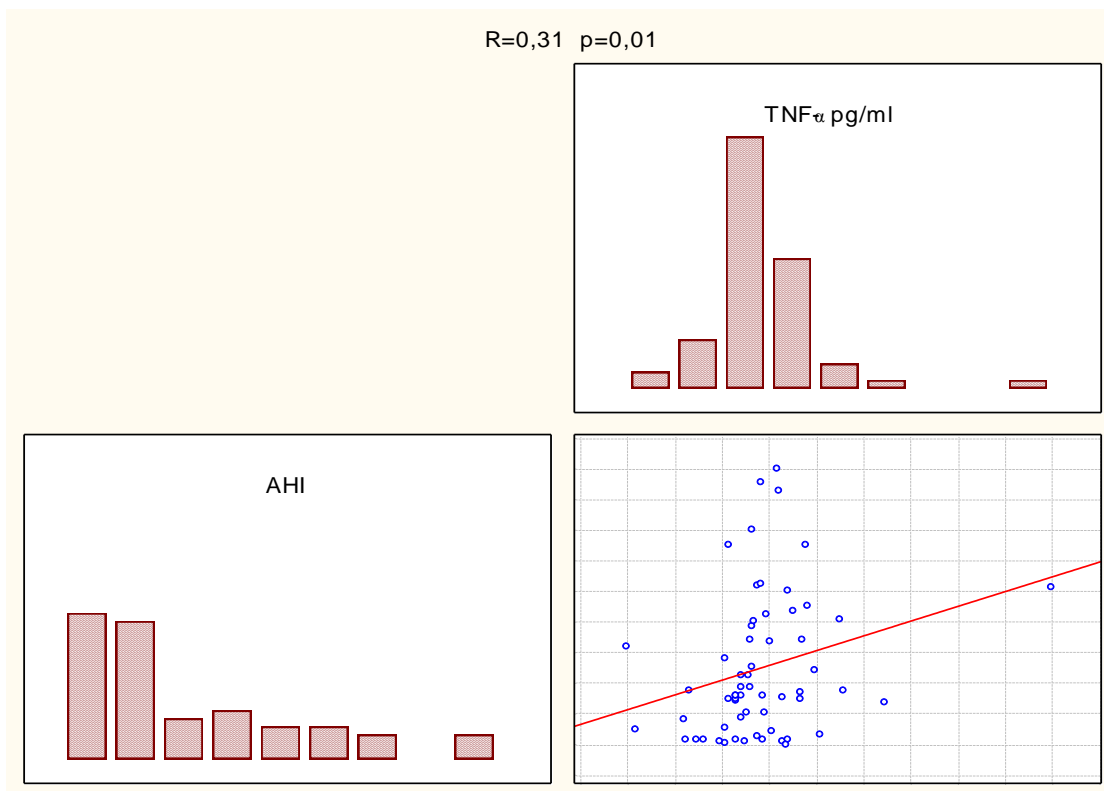
R = 0,33 p = 0,01



Ryc. 48. Korelacja pomiędzy AHI a glukozą.



**Ryc. 49.** Korelacja pomiędzy AHI a TAG.



**Ryc. 50.** Korelacja pomiędzy AHI a TNF- $\alpha$ .

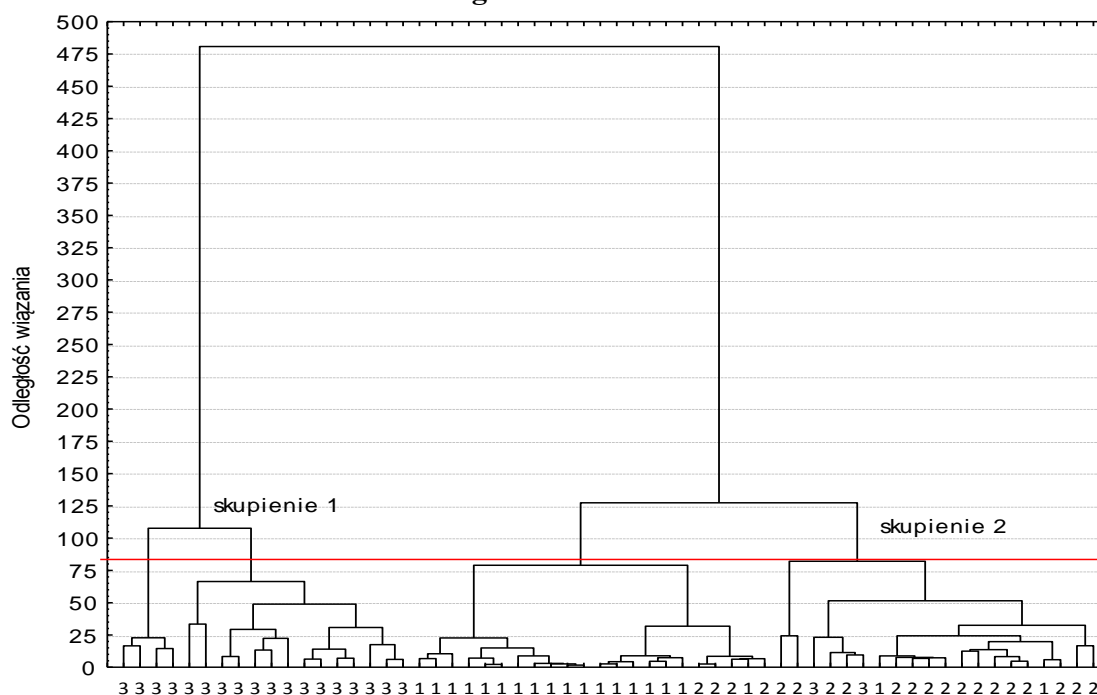
## 4.5. Analiza wieloparametryczna

Celem analizy skupień jest połączenie zbioru obiektów w homogeniczne grupy (klasy, skupienia, segmenty). Klasyfikowane obiekty, które znajdują się w jednej grupie, powinny być jak najbardziej do siebie podobne - powinniśmy uzyskać dużą homogeniczność w obrębie skupień.

Analiza skupień została przeprowadzona w odniesieniu do obiektów (badanych), jak i zmiennych (parametrów) metodą aglomeracji. W metodzie tej, przy formowaniu skupień, wykorzystywane są miary odległości pomiędzy obiektami. W opracowaniu wykorzystano odległość euklidesową. Jest to prawdopodobnie najczęściej wybierany typ odległości. Grupowania obiektów i zmiennych dokonano przy wykorzystaniu metody aglomeracji Warda (metoda ta jest powszechnie uznawana jako bardzo efektywna).

Wyniki analizy skupień przedstawiono w postaci diagramów (drzew). Pierwszy diagram ilustruje zastosowanie analizy skupień do obiektów (pacjentów). Drugi został wykonany w odniesieniu do analizowanych parametrów (zmiennych), za pomocą których pacjenci zostali scharakteryzowani.

### Diagram drzewa Metoda Warda Odległość euklidesowa



Ryc. 51. Diagram drzewa – metoda Warda dla parametrów: BMI, AHI, CRP, IL-1, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , KIM1, KIM2 w ocenie jednorodności skupień.

### **Interpretacja:**

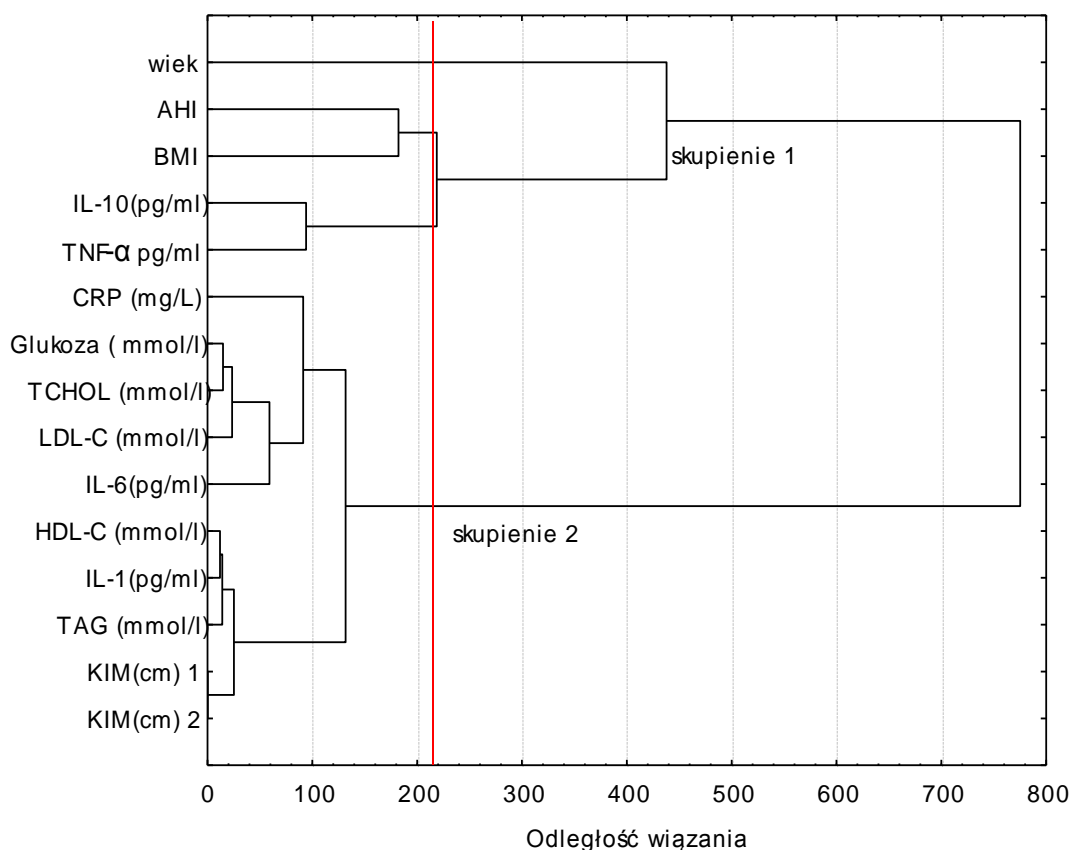
Analiza skupień została oparta na następujących zmiennych: BMI, AHI, CRP, IL-1, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , KIM1, KIM2.

Na podstawie ich wartości został stworzony dendrogram metodą Warda. Po ocenie struktury dendrogramu uznano, iż najodpowiedniejszą odległością aglomeracyjną poziomu odcinającego będzie 85. Tworzą się wówczas 2 duże skupienia pacjentów. Patrząc od lewej strony dendrogramu: pierwsze, które obejmuje czterech pacjentów z grupy o najwyższym stopniu bezdechu (3) posiada bardzo wysokie wartości AHI (od 60,5 do 76,4) oraz BMI powyżej 30. Zgrupowanie to łączy się z dwoma kolejnymi skupieniami pacjentów z grupy o najwyższym stopniu bezdechu (3). Pierwsze obejmuje dwóch pacjentów, których charakteryzuje wysoka wartość pomiaru KIM2 (0,15 i 0,28). Kolejnych 12 pacjentów występuje w dwóch grupach (odpowiednio 5 i 7 chorych). Pierwszą charakteryzują m.in. wysokie wartości BMI (od 28,7 do 48,90), a u czterech odnotowywane są wysokie wartości KIM2 (od 0,12 do 0,21 cm). Ostatnie ze skupień, to siedmiu pacjentów, których charakteryzuje m. in. niższe od przeciętnej stężenie IL-1. U sześciu, z siedmiu pacjentów, wartości tego parametru zawierają się w przedziale od 0,60 do 0,83 (średnia dla grupy 3 to 1,03, a dla całości - 1,14 pg/ml).

Pierwsze z lewej duże skupienie obejmuje łącznie 18 pacjentów i łączy się z dwoma kolejnymi zgrupowaniami chorych. W skupieniu drugim można wyróżnić dwie podgrupy. Pierwsza skupia 11 pacjentów z pierwszym stopniem bezdechu, natomiast drugą stanowi także 11 pacjentów (siedmiu z pierwszym i 4 z drugim stopniem bezdechu). Skupienie trzecie jest najmniej jednorodne i składa się z dwóch wyraźnie zaznaczonych podgrup pacjentów. Pierwsza, to dwóch pacjentów o bardzo wysokich stężeniach IL-10 (34,68 i 51,96 pg/ml), a zaliczonych do drugiego stopnia bezdechu. Drugie składa się z grupy 4 pacjentów o drugim i trzecim stopniu bezdechu, których charakteryzuje między innymi wysoka wartość CRP (od 12,2 do 16,20 mg/L) oraz 14 pacjentów w większości w drugim stopniu bezdechu (12 chorych) i 2 chorych z pierwszym stopniem bezdechu.

### **Wniosek:**

Analiza skupień wykazała, iż największą homogenicznością pod względem analizowanych cech (parametrów) charakteryzuje się grupa pacjentów z trzecim stopniem OBS.



**Ryc. 52.** Diagram drzewa – metoda Warda dla analizy zmiennych: wiek, BMI, AHI, CRP, IL-1, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , KIM1, KIM2, TCHOL, LDL-C, HDL-C, TAG, glukoza.

Drugi diagram został wykonany w odniesieniu do analizowanych parametrów (zmiennych), jakimi pacjenci zostali scharakteryzowani. Zaznaczyły się 2 wyraźne skupienia cech. Pierwsze obejmuje wiek pacjenta, który stanowi informację niezależną od pozostałych parametrów tego skupienia oraz AHI i BMI, a więc ogólną informację o stanie fizycznym osobnika. Druga para cech w skupieniu pierwszym, to dwa parametry stanu zapalnego: IL-10 (pg/ml) i TNF- $\alpha$  (pg/ml). Wyodrębniono też drugie wyraźne skupienie - parametr CRP (mg/L), który konweniuje z 4 zmiennymi: TCHOL (mmol/l), glukozą (mmol/l), LDL-C (mmol/l) i IL-6 (pg/ml). Ostatni zbiór łączy KIM1 (cm) i KIM2 (cm) z 3 parametrami HDL-C (mmol/l), IL-1(pg/ml) oraz TAG (mmol/l). To ostatnie skupienie powiązane jest z ważnym parametrem stanu zapalnego, jakim jest CRP.

### **Wniosek:**

U pacjenta opisanego którąkolwiek z cech z jednego rodzaju skupienia, można prognozować wystąpienie pozostałych, w stopniu równie podobnym.



## **5. DYSKUSJA**

Przesłanką do podjęcia przedstawionych w rozprawie badań była ocena stopnia zaawansowania obturacyjnego bezdechu sennego oraz towarzyszących zmian naczyniowych (kompleks intima – media) i metabolicznych. Szczegółowe mechanizmy patogenetyczne z tym związane są wyjaśnione w literaturze tylko częściowo. Implikuje to konieczność prowadzenia dalszych prac badawczych dotyczących roli parametrów stanu zapalnego w prognozowaniu ryzyka metabolicznego i sercowo – naczyniowego, związanego z rozwojem obturacyjnego bezdechu sennego.

Analizując patogenezę OBS zawarto w piśmiennictwie wiele hipotez, próbujących powiązać jego występowanie z zaburzeniami neurotransmiterów, stresem oksydacyjnym czy teorią cytokinową zapalenia. Niezwykle ważną rolę odgrywa ustalenie wpływu opisywanych zjawisk na rozwój schorzenia. Przedstawiona praca jest próbą weryfikacji znaczenia pomiaru grubości kompleksu intima - media u chorych z OBS oraz określenia znaczenia wybranych wskaźników aktywności procesu zapalnego na potencjalne ryzyko wystąpienia incydentów sercowo - naczyniowych w tej grupie chorych. Na przestrzeni ostatnich lat badacze wielokrotnie próbowali odpowiedzieć na pytanie, czy obturacyjny bezdech senny jest niezależnym czynnikiem ryzyka powstawania zmian miażdżycowych. Obiektywna ocena tego problemu wymagała starannego doboru osób do własnego projektu badawczego, aby w badanej populacji zaburzenia gospodarki lipidowej i węglowodanowej nie rzutowały na uzyskane wyniki badań. Dla pełnej jasności obrazu z udziału w badaniu wykluczono osoby z chorobami współistniejącymi.

### **5.1. Wiek**

Obturacyjny bezdech senny obserwowany jest u około 2 do 4% osób w wieku 30 - 60 lat. W polskich badaniach epidemiologicznych OBS stwierdzono u 16,7% mężczyzn i 5,4% kobiet [12]. Wyniki te zostały zweryfikowane w 2008 przez tych samych badaczy, którzy rozpoznali OBS u 7,5% badanych. Chorobę potwierdzono prawie 4-krotnie częściej u mężczyzn (11,2%), niż u kobiet (3,4%), a jej ciężkość była podobna u obu płci [11]. W przedstawionej pracy najliczniej reprezentowany był przedział wiekowy pomiędzy 50 a 60 rokiem życia. Znalazło to odzwierciedlenie w innych cytowanych badaniach populacyjnych [79, 89].

## **5.2. Otyłość**

Bardzo ważnym czynnikiem ryzyka rozwoju OBS jest otyłość. W niniejszej pracy średnia masa ciała w grupie badanej nie różniła się istotnie statystycznie w porównaniu z grupą kontrolną. Różnic znamiennej statystycznie nie wykazano również w zakresie obwodu talii pomiędzy grupą z OBS a grupą kontrolną. W latach 2003 – 2005 przeprowadzono wielośrodkowe ogólnopolskie badanie stanu zdrowia ludności WOBASZ. W grupie prawie 14 tysięcy osób nadwagę lub otyłość rozpoznano u 61,6% mężczyzn i 50,3% kobiet [81].

W powyższej rozprawie w grupie chorych z OBS nadwagę stwierdzono u 41,7%, otyłość u 55%. Wykazano, że 85% pacjentów z ciężkim stopniem zaawansowania choroby było otyłych, a w stopniu łagodnym i umiarkowanym odsetek ten wynosił 40%. W grupie kontrolnej u 65% pacjentów zdiagnozowano nadwagę, natomiast otyłość obserwowano u 25%. Jest to wyrazem światowego trendu prezentowanego w wielu badaniach, który potwierdza fakt, iż otyłość jest najważniejszym czynnikiem ryzyka rozwoju OBS [82]. Podobne wnioski zostały przedstawione w badaniu sondażowym SOPKARD. Po przebadaniu 40-sto i 50-cioletków, wykazano nadwagę lub otyłość u 61% i 65% ankietowanych w odpowiednich przedziałach wiekowych [83].

Zamieszczony protokół badania zakładał też ocenę korelacji pomiędzy wskaźnikiem BMI a badanymi zmiennymi, między innymi kompleksem intima - media. Uzyskano dodatnią przeciętną korelację pomiędzy BMI a KIM1 oraz BMI a KIM2. Istnieje wiele danych w piśmiennictwie potwierdzających tę zależność [84, 85]. Stwierdzono również słabą dodatnią korelację pomiędzy BMI a stężeniem glukozy u pacjentów z OBS. Zależność OBS oraz stanów przedcukrzycowych i cukrzycy typu 2 z otyłością jest tak znamienna, iż w praktyce klinicznej niezwykle trudna staje się ocena niezależnego od otyłości wpływu OBS na cukrzycę i odwrotnie, co potwierdził w swoich obserwacjach naukowych Clarenbach [86].

## **5.3. Parametry stanu zapalnego**

Wiadomo, iż w OBS dochodzić może do wzrostu parametrów stanu zapalnego. Wspólna koincydencja OBS i otyłości sprawia, iż wiele ich wspólnych szlaków biochemicznych, takich jak stres oksydacyjny i zapalenie, podnosi rolę biomarkerów zapalnych i innych patofizjologicznych procesów. IL-6 i białko C-reaktywne, to

kluczowe parametry zapalne związane ze zwiększonym ryzykiem rozwoju miażdżycy tętnic i chorób sercowo - naczyniowych (CVD). IL-6 stymuluje produkcję prozapalnego CRP w wątrobie, generując produkcję tkanki tłuszczowej trzewnej. Wiele danych potwierdza, że u większości pacjentów z nadmierną masą ciała, rola zapalenia w OBS jest mała, z uwagi na bardzo wysoką stymulację otyłości. Odwrotnie, można wysnuć hipotezę, że wpływ OBS na proces zapalny jest wzmacniany przez zwiększenie liczby komórek zapalnych w tłuszczu trzewnym u bardziej otyłych pacjentów.

Niektóre badania wykazały niezależne związki pomiędzy OBS oraz stężeniami IL-6 i CRP. Sydney i wsp. udowodnili korelację OBS z podwyższeniem stężenia biochemicznych markerów stanu zapalnego. W badaniu własnym u pacjentów z OBS, wykazano wzrost stężenia IL-6, CRP i TNF- $\alpha$ . [87]. Zbliżone obserwacje poczynił Steiropoulos, który udowodnił silny związek pomiędzy nasileniem stopnia OBS a podwyższeniem stężenia TNF- $\alpha$ . Badacz ten nie zaobserwował z kolei korelacji dotyczącej stężenia białka C-reaktywnego pomiędzy grupą kontrolną a badaną [88]. Do podobnych wniosków doszli w swojej metaanalizie Nadeem i wsp., potwierdzając wysoką dodatnią korelację pomiędzy parametrami stanu zapalnego (CRP, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8) a stopniem OBS [89]. W pochodzącym z Japonii prospektywnym badaniu prawie 4 tysięcy pacjentów wartości stężenia CRP zwiększały się wraz z nasileniem stopnia obturacyjnych zaburzeń oddychania podczas snu [90].

Kolejnym badaniem wskazującym na związek CRP z nasileniem patologii OBS jest projekt autorstwa Yokoe i wsp. [91].

W przedstawionej rozprawie dotyczącej stężenia CRP w surowicy krwi wykazano różnice istotne statystycznie pomiędzy grupą badaną a kontrolną oraz zasadniczo pomiędzy wszystkimi grupami wyodrębnionymi na podstawie stopnia zaawansowania choroby (za wyjątkiem różnicy między OBS łagodnym a umiarkowanym). W zakresie stężenia IL-1 w surowicy krwi stwierdzono istotną statystycznie różnicę pomiędzy podgrupami wyodrębnionymi na podstawie stopnia nasilenia OBS, natomiast nie była ona widoczna pomiędzy grupą badaną a kontrolną. Odnośnie stężenia IL-10, zaobserwowano różnicę zmienną statystycznie pomiędzy grupą badaną a kontrolną. W obu grupach stwierdzono stężenie IL-10 poniżej poziomu wartości referencyjnych, natomiast w grupie z OBS stężenie to było niższe w porównaniu z grupą kontrolną. Wykazano także różnicę na granicy istotności statystycznej w zakresie stężenia IL-10 pomiędzy poszczególnymi stopniami zaawansowania OBS. Najwyższe stężenie omawianej cytokiny obserwowane było

w umiarkowanym stopniu bezdechu. Stwierdzono podwyższone stężenie IL-6, zarówno w grupie badanej, jak i kontrolnej. Zwracał uwagę rosnący trend w zakresie stężeń IL-6 w podgrupach wyselekcjonowanych na podstawie stopnia nasilenia OBS. Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy w zakresie stężenia TNF- $\alpha$  pomiędzy grupą badaną a kontrolną, natomiast uwidoczniło różnice na granicy istotności statystycznej w zakresie stężeń tego parametru pomiędzy poszczególnymi stopniami nasilenia OBS.

Istnieją jednakże wyniki badań, które nie potwierdzają związku pomiędzy OBS a zmianami stężenia mediatorów zapalnych. Lapuente i wsp. przebadali 140 pacjentów z OBS. U wszystkich osób zbadano parametry antropometryczne (BMI, ciśnienie tętnicze i obwód talii), status palenia tytoniu oraz stężenie wybranych parametrów stanu zapalnego. Nie wykazano znamienych statystycznie różnic dotyczących stężenia IL-6 oraz TNF- $\alpha$  u pacjentów z OBS i w grupie kontrolnej [92]. Podobne obserwacje poczynił indyjski naukowiec Sharma, stwierdzając po zbadaniu 907 pacjentów, iż to otyłość, a nie OBS wpływa na wzrost parametrów stanu zapalnego i grubość kompleksu KIM [93]. Korelacji CRP ze stopniem nasilenia patologii OBS nie potwierdziły również wyniki innych badań [94, 95].

Powyższe dane sugerują, iż u pacjentów z OBS obserwowane schorzenia współistniejące, takie jak: choroby układu sercowo - naczyniowego, cukrzyca oraz zaburzenia gospodarki lipidowej mogą mieć istotny wpływ na wzrost stężenia CRP. Związek OBS i zespołu metabolicznego, obserwowany u pacjentów z otyłością olbrzymią, stał się przedmiotem badań kolejnych autorów. W pracy Salorda i wsp. poddano analizie 52 pacjentów z koincydencją wyżej wymienionych schorzeń, gdzie OBS definiowany był jako  $AHI \geq 15$ . W grupie badanej i kontrolnej dokonano pomiaru stężeń adipokin prozapalnych, wykładników dysfunkcji śródbłonna oraz markerów miażdżycy. Nie uzyskano jednak istotnych statystycznie różnic w stężeniu wskaźników zapalnych pomiędzy obserwowanymi grupami [96].

W piśmiennictwie pojawiają się też doniesienia mówiące o wpływie czasu snu na organizm. Badania sugerują, iż zarówno krótkie, jak i wydłużone okresy snu, są związane ze zwiększonym ryzykiem zgonu z przyczyn sercowo - naczyniowych. Podkreślają również wpływ zaburzeń długości snu na stężenie cytokin istotnych w regulacji stanu zapalnego. Brak snu może zwiększać stężenie cytokin prozapalnych, w tym CRP, IL-6 oraz czynnika TNF- $\alpha$  [97-99]. Nie został jednak potwierdzony długoterminowy wpływ braku snu na efekt prozapalny. Natomiast w wielu analizach, uwzględniających wiek, płeć, rasę, BMI, obwód talii, AHI udowodniono, iż dłuższy

czas trwania snu nie wiązał się z podwyższonymi stężeniami IL-1 oraz IL-10. Taka teza pojawiła się w pracy Patel i wsp. [100]. Trzeba zwrócić uwagę na fakt, że zapalne cytokiny są uwalniane w odpowiedzi na stres, uszkodzenie tkanki czy zakażenie. Jest to zazwyczaj odpowiedź adaptacyjna. Istnieje powszechna teza, iż przewlekły wzrost stężenia białek zapalnych, może przyczynić się do generowania chorób sercowo - naczyniowych i zaburzeń hormonalnych. Zmiany w stężeniach krążących pro- i przeciwzapalnych cytokin oraz cząsteczek adhezyjnych w czasie snu, wiążą się zarówno ze zwiększaniem, jak i zmniejszaniem nasilenia stanu zapalnego. Wyniki pracy Freya i wsp. wyraźnie pokazują, że zaburzony sen generuje reakcję na stres, a w konsekwencji stymuluje wyrzut zarówno pro- jak i przeciwzapalnych białek [101].

Warto podkreślić też aspekt uwzględniający wpływ terapii CPAP i MAS (mandibular advancement splints) na obniżenie stężeń markerów zapalenia. Praca Niżankowskiej-Jędrzejczyk i wsp. oceniała efekty 3- i 6-miesięcznego leczenia 22 pacjentów z łagodnym i umiarkowanym stopniem OBS po zastosowaniu szyn protruzyjnych, zapobiegających cofaniu się języka. W surowicy krwi oznaczano stężenie wybranych parametrów stanu zapalnego, takich jak: CRP, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10. Dodatkowo oceniano stężenia fibrynogenu i glukozy. W porównaniu z grupą kontrolną chorzy z OBS mieli wyjściowo wyższe stężenie fibrynogenu i glukozy. Po leczeniu obserwowano obniżone stężenie IL-1 $\beta$  oraz redukcję wartości wskaźnika AHI (24 vs 13,1/h po 3 miesiącach leczenia oraz 13,1 vs 7,05/h po 6-miesięcznej terapii MAS). Pozostałe wskaźniki stanu zapalnego nie uległy istotnej zmianie [102]. Niejednoznaczne wyniki przyniosły też próby określenia wpływu terapii CPAP na obniżenie stężenia parametrów stanu zapalnego [91, 103]. W badaniu Kohlera i wsp. nie potwierdzono terapeutycznego wpływu leczenia z wykorzystaniem CPAP na zmiany w zakresie stężeń CRP, IL-6, adiponektyny i INF- $\gamma$  po 4 tygodniach terapii. Fakt ten można tłumaczyć zbyt krótkim okresem leczenia. Jest to niewątpliwie zagadnienie wymagające dalszych obserwacji klinicznych [104].

#### **5.4. Kompleks intima – media (KIM)**

Pomiar grubości kompleksu intima – media był bardzo ważnym celem przeprowadzonych badań w kontekście oceny ryzyka naczyniowego u pacjentów z OBS.

W momencie, kiedy stwierdzamy obecność zmian miażdżycowych w świetle naczynia, dochodzi najczęściej do uszkodzenia wielonarządowego, co sprawia, że OBS

przestaje funkcjonować jako izolowane rozpoznanie kliniczne. Szczególnie istotny wpływ na rozwój w/w zmian odgrywają liczne jednostki chorobowe, takie jak: nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, hiperlipidemia.

Jednym z głównych celów przedstawionej pracy była próba udzielenia odpowiedzi na pytanie, czy u chorych z OBS bez wyżej wymienionych schorzeń dochodzi do wzrostu wartości KIM, a także, dokonując szczegółowych analiz, czy obserwowana jest zależność pomiędzy stężeniem parametrów stanu zapalnego a grubością kompleksu intima - media.

Pierwszym badaczem, który dokonał pomiaru KIM u chorych z OBS był Silvestrini. Kryterium włączenia stanowił ciężki stopień zaawansowania OBS. Grubość KIM w grupie badanej była znacząco wyższa w porównaniu z grupą kontrolną ( $1,43 \pm 0,34$  vs  $0,97 \pm 0,17$  mm;  $p < 0,0001$ ) [105]. Podobnej analizy podjął się również Schulz, który dokonał oceny grubości KIM w grupie 35 mężczyzn z OBS i wykazał, iż wartość ta jest znacząco wyższa w porównaniu z grupą kontrolną ( $1,04 \pm 0,004$  vs  $0,79 \pm 0,02$  mm) [106]. Obaj naukowcy zadbali, aby obecność chorób towarzyszących w grupie badanej i kontrolnej była porównywalna. Należy jednak pamiętać, iż działanie to nie jest wystarczające do wysnuwania konkretnych sformułowań, dotyczących niezależnego wpływu OBS na obecność wczesnych zmian aterosklerotycznych w naczyniach.

Analiza wyników własnych wykazała istotną statystycznie różnicę w zakresie KIM1 oraz KIM2 między grupą badaną a grupą kontrolną oraz różnice znamienne statystycznie dotyczące wartości KIM2 zasadniczo pomiędzy wszystkimi stopniami zaawansowania OBS (za wyjątkiem różnicy między OBS łagodnym a umiarkowanym). Ciekawym spostrzeżeniem wydaje się również fakt, iż zaobserwowano wyraźnie wyższe wartości KIM zmierzone po stronie lewej (KIM2) w obu projekcjach, w porównaniu do strony prawej (KIM1). W piśmiennictwie nie ma przekonujących dowodów na powyższe spostrzeżenia, chociaż można wytłumaczyć zaistniały fakt odrębnościami anatomicznymi oraz większym obciążeniem ciśnieniowym po stronie lewej [107].

Zbliżone wyniki badań opublikowali Drager i Tanriverdi, wykazując znacznie wyższe wartości KIM w grupie badanej w porównaniu z grupą kontrolną oraz w grupie pacjentów z ciężką postacią OBS w odniesieniu do pacjentów z łagodnym i umiarkowanym stopniem zaawansowania choroby [108, 109]. W innej pracy Fox i wsp. wykazali silny i niezależny związek pomiędzy stopniem nasilenia OBS

a grubością kompleksu intima – media. Przebadano 51 pacjentów, u których wstępnie wyeliminowano obecność w wywiadzie choroby układu sercowo - naczyniowego oraz potencjalnych czynników ryzyka tej choroby, takich jak: palenie tytoniu, nadciśnienie tętnicze, hiperlipidemia oraz cukrzyca typu 2 [110].

Bardziej szczegółowe analizy przeprowadzili włoscy naukowcy pod kierunkiem Ciccone, dokonując weryfikacji zależności między wielkością KIM a stężeniem markerów zapalnych w surowicy krwi u chorych z OBS [111]. Do badania włączono 80 pacjentów, grupa kontrola liczyła 40 osób. U wszystkich badanych w surowicy krwi oznaczono stężenie białka CRP, IL-6, TNF- $\alpha$ . Uzyskano podwyższone wartości KIM u pacjentów z OBS w porównaniu do grupy kontrolnej ( $0,89 \pm 0,13$  vs  $0,65 \pm 0,1$  mm;  $p < 0,01$ ). Wartości KIM wykazywały również istotną statystycznie dodatnią korelację z nasileniem stopnia bezdechu. U osób z OBS w stopniu umiarkowanym wielkość KIM była istotnie statystycznie wyższa, aniżeli w stopniu łagodnym i w grupie zdrowych osób. Podobnie stężenia IL-6 i TNF- $\alpha$  u pacjentów z OBS ( $16,7 \pm 6,6$  pg/ml i  $28,6 \pm 13,9$  pg/ml) były statystycznie wyższe w porównaniu z grupą kontrolną. ( $10,8 \pm 5,3$  pg/ml i  $12,53 \pm 3,48$  pg/ml). Co ciekawe, wartość KIM korelowała ze stężeniem CRP ( $r=0,44$ ;  $p < 0,01$ ), IL-6 ( $r=0,42$ ;  $p < 0,01$ ), TNF- $\alpha$  ( $r=0,53$ ;  $p < 0,01$ ). Włoscy naukowcy przedstawili wnioski, po części tożsame z wnioskami płynącymi z tej pracy, iż stężenia wybranych parametrów stanu zapalnego są skorelowane z wartością KIM u chorych na OBS. Podobne obserwacje poczynił Testelmans i wsp. [112]. Autor wysunął hipotezę, że koincydencja OBS i przebytego ostrego epizodu sercowo - naczyniowego wpływa na podwyższenie stężeń markerów stanu zapalnego, między innymi CRP, IL-1 Ra, IL-6, IL-8 i TNF- $\alpha$ . Stwierdził też dodatnią korelację między wartością KIM, stężeniem oznaczanych cytokin a nasileniem stopnia OBS.

W badaniu własnym stwierdzono wysoką dodatnią korelację między wartością KIM1 a stężeniem TNF- $\alpha$  ( $r=0,57$ ;  $p=0,0$ ) oraz przeciętną ujemną korelację pomiędzy KIM1 a IL-10 ( $r=-0,44$ ;  $p=0,02$ ). Zaobserwowano też przeciętną dodatnią korelację pomiędzy KIM2 a stężeniem CRP ( $r=0,38$ ;  $p=0,04$ ). Nie ma danych literaturowych, które potwierdzają związek między KIM i stężeniem IL-10. Fakt ujemnej korelacji pomiędzy tymi parametrami można tłumaczyć przeciwwzapalnym działaniem omawianej cytokiny. Jest to niewątpliwie zagadnienie wymagające dalszych obserwacji i przeprowadzenia bardziej szczegółowych analiz.

## 5.5. Parametry gospodarki węglowodanowej i lipidowej

Dane literaturowe podkreślają istotną rolę zaburzeń gospodarki lipidowej i węglowodanowej w określeniu wpływu OBS na stopień nasilenia wybranych mechanizmów pośrednich, które w konsekwencji implikują ryzyko chorób sercowo - naczyniowych.

Analiza parametrów gospodarki węglowodanowej w przedstawionej rozprawie wykazała istotną statystycznie różnicę dotyczącą stężenia glukozy na czczo pomiędzy grupą badaną a kontrolną. Zaobserwowano także istotne statystycznie różnice w stężeniu glukozy pomiędzy podgrupami wyodrębnionymi na podstawie stopnia zaawansowania OBS. Metabolizm glukozy jest zagadnieniem skomplikowanym i trudnym, mającym niewątpliwie ścisły związek z procesami hipoksji tkankowej, typowej dla OBS. W wielu pracach udowodniono, iż nawracające niedotlenienia w przebiegu OBS aktywują układ współczulny oraz oś podwzgórze - przysadka - kora nadnerczy, wpływając na wzrost wydzielania steroidów, nasilenie procesów glikogenolizy, glukoneogenezy, lipolizy, a w konsekwencji - wzrost stężenia wolnych kwasów tłuszczowych i glukagonu. Zatem naturalny przebieg OBS może prowadzić do rozwoju insulinooporności, stanu przedcukrzycowego i cukrzycy. Na potwierdzenie zamieszczonej hipotezy wskazują liczne doniesienia naukowe [113, 114]. Do ważnych wniosków doszedł w swojej analizie Kent i wsp. Badając 6616 pacjentów z OBS udowodnili, że wraz ze wzrostem stopnia nasilenia choroby rośnie częstość występowania cukrzycy typu 2, od 6,6% w grupie kontrolnej do 28,6% w ciężkim stopniu bezdechu [115]. Warto też zwrócić uwagę na istotny związek OBS i cukrzycy typu 2 w kontekście współistniejącej otyłości. Jest to zagadnienie utrudniające w prosty i bezpośredni sposób określenie niezależnego od otyłości wpływu OBS na cukrzycę i odwrotnie [86].

Z kolei, w aspekcie parametrów gospodarki lipidowej, w prezentowanej rozprawie nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy w zakresie stężenia TAG pomiędzy grupą kontrolną a badaną. Nie udowodniono również znamienych statystycznie różnic stężenia cholesterolu całkowitego oraz frakcji HDL-C i LDL-C. Wykazano jedynie wzrastający trend w zakresie stężenia cholesterolu całkowitego oraz frakcji LDL, wraz ze wzrostem wartości AHI. Z kolei najwyższy poziom frakcji HDL obserwowany był w łagodnym stopniu bezdechu. Pośrednio może to stanowić poparcie tezy wielu badaczy, upatrujących w OBS niezależny czynnik ryzyka chorób sercowo -



naczyniowych [116-118]. W przedstawionej pracy podjęto też próbę określenia korelacji pomiędzy wykładnikami zaburzeń gospodarki węglowodanowej a grubością KIM. Nie potwierdzono istotnych statystycznie zależności w tym zakresie, mimo że związek ten był wielokrotnie opisywany [119, 120].

Podsumowując niniejszą rozprawę należy stwierdzić, iż chorzy z obturacyjnym bezdechem sennym, to grupa niejednorodna klinicznie, zróżnicowana także pod względem parametrów antropometrycznych i biochemicznych. Ze względu na przewlekłość jednostki chorobowej, jaką jest obturacyjny bezdech senny i bardzo często współistniejące z nim inne choroby, stanowi ona wyzwanie nie tylko dla lekarza, ale też całego systemu ochrony zdrowia. Wydaje się uzasadnione podejmowanie dalszych prac badawczych, wykazujących związek pomiędzy nasileniem procesu zapalnego a rozwojem i stopniem zaawansowania obturacyjnego bezdechu sennego, a także poszukiwanie czynników prognostycznych, warunkujących rozwój chorób współistniejących. Wyniki tych badań mogłyby niewątpliwie wpłynąć na szybsze wyselekcjonowanie pacjentów o podwyższonym ryzyku incydentów sercowo - naczyniowych i znaleźć szerokie zastosowanie w praktyce klinicznej.

## 6. WNIOSKI

- 1) Zwiększona grubość kompleksu intima – media u pacjentów z obturacyjnym bezdechem sennym wskazuje na możliwość wystąpienia powikłań naczyniowych.
- 2) U chorych z obturacyjnym bezdechem sennym wzrost stężenia we krwi białka C-reaktywnego związany jest z przewlekłym procesem zapalnym jako ważnym czynnikiem patogenetycznym tej choroby.
- 3) Obniżone stężenie działającej protekcyjnie interleukiny-10 może stanowić pośredni wykładnik nasilenia stanu zapalnego u pacjentów z obturacyjnym bezdechem sennym.
- 4) Współistnienie otyłości brzusznej, hiperglikemii i zauważalny trend do hipertriglicydemii może być czynnikiem prognostycznym zwiększonego ryzyka zaburzeń naczyniowych w grupie chorych z obturacyjnym bezdechem sennym.
- 5) Uzasadnione jest podejmowanie dalszych prac badawczych dotyczących związku pomiędzy nasileniem procesu zapalnego a rozwojem i stopniem zaawansowania obturacyjnego bezdechu sennego.

## 7. STRESZCZENIE

Obturacyjny bezdech senny jest stanem patologii oddychania w czasie snu, polegającym na pojawieniu się nawracających epizodów zapadania się górnych dróg oddechowych. Towarzyszy mu hipoksemia oraz wybudzenia, prowadzące do zaburzenia architektury snu. Analizując patogenezę OBS sformułowano wiele hipotez próbujących powiązać jego występowanie z zaburzeniami neurotransmiterów, stresem oksydacyjnym czy teorią cytokinową zapalenia. Niezwykle ważne wydaje się ustalenie wpływu powyższych zjawisk na rozwój choroby.

We wprowadzeniu pracy przedstawiono wpływ OBS na wskaźniki procesu zapalnego oraz grubość kompleksu intima – media. Omówiono rolę wybranych cytokin (IL-1, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ ) oraz CRP w patobiochemii schorzenia. Poruszono również zagadnienie korelacji OBS i chorób współistniejących.

Częstym zjawiskiem opisywanym u chorych na OBS jest współistnienie zmian sercowo – naczyniowych i metabolicznych. W interpretacji znaczenia niezależnych czynników ryzyka wystąpienia tych zjawisk, należy zwrócić uwagę na rolę zmiennych, jakimi są: otyłość, zaburzenia gospodarki lipidowej i węglowodanowej, stosowana farmakoterapia oraz występowanie chorób układu sercowo - naczyniowego. Szczegółowe mechanizmy patogenetyczne z tym związane są wyjaśnione tylko częściowo. Implikuje to konieczność prowadzenia prac badawczych, dotyczących roli parametrów stanu zapalnego w prognozowaniu ryzyka metabolicznego i sercowo – naczyniowego, związanego z rozwojem OBS.

Wyżej podane przesłanki przyczyniły się do podjęcia badania, którego wyniki mogą wpłynąć na szybsze i precyzyjne wyselekcjonowanie pacjentów o podwyższonym ryzyku rozwoju incydentów sercowo - naczyniowych i znaleźć szerokie zastosowanie w praktyce klinicznej. Do głównych celów rozprawy zaliczono: ocenę występowania wczesnych zmian miażdżycowych w naczyniach tętniczych u chorych z OBS, określenie wybranych wskaźników aktywności procesu zapalnego w tej grupie pacjentów oraz poszukiwanie zależności między stanem zapalnym a zmianami naczyniowymi w odniesieniu do stopnia ciężkości OBS.

Kwalifikacja pacjentów do badania przebiegała w trzech etapach. Wstępnie badano 209 mężczyzn w wieku od 30 do 70 lat zgłaszających zaburzenia oddychania podczas snu. Na podstawie uzyskanych wyników badania ankietowego wykluczono 77 pacjentów, u których współistniała jedna lub kilka jednostek chorobowych, takich

jak: nadciśnienie tętnicze, choroba wieńcowa (zarówno wariant stabilny choroby - dusznica bolesna oraz przebyty zawał mięśnia sercowego), niewydolność serca, cukrzyca, udar mózgu, hiperlipidemia, przewlekłe choroby zapalne, choroby nowotworowe i autoimmunologiczne, przewlekła choroba nerek, wątroby.

Do dalszego etapu projektu badawczego w Laboratorium Snu włączono 132 pacjentów, którzy uzyskali w skali Epworth  $\geq 11$  punktów, nie mieli wymienionych powyżej chorób współistniejących oraz nie stosowali przewlekłe farmakoterapii, mogącej wpływać na wyniki przeprowadzonych badań. U osób tych potwierdzono występowanie OBS na podstawie pełnej polisomnografii (PSG) przy użyciu aparatu klasy 1: EMBLA S4000 - Remlogic z oprogramowaniem Somnologica Studio 5,0 (Natus 2009). Z dalszego udziału w badaniu wyłączono również tych mężczyzn, u których na podstawie średnich wartości ciśnienia tętniczego z powtarzanych pomiarów rozpoznano *de novo* nadciśnienie tętnicze (19 osób). Ostatecznie do etapu III włączono 60 mężczyzn, których przyporządkowano do 3 grup liczących po 20 osób z uwzględnieniem stopnia zaawansowania OBS (OBS w stopniu 1, 2 i 3). Grupę kontrolną stanowiło 20 mężczyzn dobranych wiekowo, u których na podstawie PSG nie potwierdzono OBS. Kryterium włączenia do grupy kontrolnej stanowiła również przybliżona w porównaniu z grupą badaną wielkość parametrów antropometrycznych, wskazująca na nadwagę/otyłość. W obu grupach wykonano zaplanowane badania laboratoryjne (oznaczenie stężenia we krwi CRP, IL-1, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , glukozy, TCHOL, LDL-C, HDL-C oraz TAG). Dokonano również oceny pomiaru grubości kompleksu intima – media przy użyciu aparatu USG GE Voluson 730 Pro z głowicą liniową 6-12 MHz (General Electric Company, USA, 2011).

Analiz statystycznych dokonano wykorzystując program STATISTICA 10.0 PL. We wszystkich testach jako istotną statystycznie uznano wartość  $p < 0,05$ .

Przeprowadzając charakterystykę grupy badanej i kontrolnej nie stwierdzono znamiennej statystycznie różnic dotyczących wieku i parametrów antropometrycznych. W przedstawionej rozprawie stężenia CRP w surowicy krwi wykazywały różnice istotne statystycznie pomiędzy grupą badaną a kontrolną oraz zasadniczo pomiędzy wszystkimi grupami wyodrębnionymi na podstawie stopnia zaawansowania schorzenia. Stwierdzono znamiennej statystycznie różnicę stężenia IL-1 w surowicy krwi w podgrupach wyodrębnionych na podstawie stopnia nasilenia OBS, natomiast nie była ona widoczna pomiędzy grupą badaną a kontrolną. W stężeniu IL-10 zaobserwowano różnicę istotną statystycznie pomiędzy grupą badaną a kontrolną.

W obu grupach stwierdzono stężenie IL-10 poniżej poziomu wartości referencyjnych, natomiast w grupie z OBS stężenie to było niższe w porównaniu z grupą kontrolną. Wykazano także różnicę na granicy istotności statystycznej w stężeniu IL-10 pomiędzy poszczególnymi stopniami zaawansowania OBS. Najwyższe stężenie omawianej cytokiny obserwowane było w umiarkowanym stopniu bezdechu. Stwierdzono podwyższone stężenie IL-6, zarówno w grupie badanej, jak i kontrolnej. Zwracał uwagę rosnący trend w zakresie stężeń IL-6 w podgrupach wyselekcjonowanych na podstawie stopnia nasilenia OBS. Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy stężenia TNF- $\alpha$  pomiędzy grupą badaną a kontrolną, natomiast uwidoczniono różnice na granicy istotności statystycznej w zakresie stężeń tego parametru pomiędzy poszczególnymi stopniami nasilenia OBS.

Bardzo ważnym celem przeprowadzonej rozprawy był również pomiar grubości kompleksu intima – media. Analiza statystyczna wykazała istotną różnicę w zakresie KIM1 oraz KIM2 między grupą badaną a grupą kontrolną oraz różnice znamienne statystycznie, dotyczące wartości KIM2 pomiędzy wszystkimi stopniami zaawansowania OBS. Zamieszczony protokół badania zakładał również ocenę korelacji pomiędzy grubością kompleksu intima - media a badanymi zmiennymi. Potwierdzono wysoką dodatnią korelację między wartością KIM1 a stężeniem TNF- $\alpha$  oraz przeciętną ujemną korelację pomiędzy KIM1 a IL-10. Zaobserwowano też przeciętną dodatnią korelację pomiędzy KIM2 a stężeniem CRP. Nie ma danych literaturowych, które potwierdzają związek między KIM i stężeniem IL-10. Fakt ujemnej korelacji pomiędzy tymi parametrami można tłumaczyć przeciwzapalnym działaniem omawianej cytokiny. Jest to niewątpliwie zagadnienie wymagające dalszych obserwacji i przeprowadzenia szczegółowych analiz.

Na podstawie przeprowadzonych badań wysunięto następujące wnioski:

- 1) Zwiększona grubość kompleksu intima – media u pacjentów z obturacyjnym bezdechem sennym wskazuje na obecność powikłań naczyniowych.
- 2) U chorych z obturacyjnym bezdechem sennym wzrost stężenia we krwi białka C- reaktywnego związany jest z przewlekłym procesem zapalnym jako ważnym czynnikiem patogenetycznym tej choroby.
- 3) Obniżone stężenie działającej protekcyjnie interleukiny-10 może stanowić pośredni wykładnik nasilenia stanu zapalnego u pacjentów z obturacyjnym bezdechem sennym.

- 4) Współistnienie otyłości brzusznej, hiperglikemii i zauważalny trend do hipertriglicydemii może być czynnikiem prognostycznym zwiększonego ryzyka zaburzeń naczyniowych w grupie chorych z obturacyjnym bezdechem sennym.
- 5) Uzasadnione jest podejmowanie dalszych prac badawczych dotyczących związku pomiędzy nasileniem procesu zapalnego a rozwojem i stopniem zaawansowania obturacyjnego bezdechu sennego.

## 8. SUMMARY

Obstructive sleep apnea (OSA) is a breathing pathology which occurs during sleep, characterized by repeated episodes of upper airway obstruction, and is usually associated with hypoxemia and arousals disturbing the architecture of sleep. While analyzing the pathogenesis of OSA, many hypotheses trying to associate its presence with disorders of neurotransmitters, oxidative stress and the inflammation cytokine theory were formulated. Therefore, it is highly important to determine the influence of these phenomena on the development of OSA.

The introduction of this thesis presents the impact of OSA on inflammatory markers and the thickness of intima – media complex. The role of selected interleukins (IL-1, IL-6, IL-10 and TNF- $\alpha$ ) and C-reactive protein in the pathobiochemistry of OSA is discussed. The correlation between OSA and comorbidities is also discussed.

The coexistence of cardiovascular and metabolic diseases in patients with OSA is a common phenomenon. While interpreting the role of independent risk factors determining the development of these pathologies, it is necessary to consider the importance of such variables as obesity, disorders of lipid and carbohydrate metabolism, pharmacotherapy and cardiovascular diseases. Specific pathogenetic mechanisms involved in this process have only been partially explained, which implies the need to conduct further research on the role of inflammatory markers in predicting metabolic and cardiovascular risk associated with development of OSA.

The aforementioned reasons have contributed to the design of this study, the results of which may enable faster and more accurate selection of patients with a higher risk of developing cardiovascular events. Furthermore, findings from this study can be widely applicable in clinical practice. The main objectives of this study include: determination of selected markers of inflammation in patients with OSA, the evaluation of early atherosclerotic lesions in their arterial vessels and the search for correlations between inflammation and vascular changes in relation to the severity of OSA.

The subjects of the study were chosen in three stages. Initially, 209 men aged 30-70, who reported disturbances in breathing during sleep, were asked to fill in the study questionnaire. The results of the study questionnaire excluded 77 subjects due to coexisting diseases, such as: arterial hypertension, coronary artery disease (both stable angina and previous myocardial infarction), heart failure, diabetes, stroke,

hyperlipidaemia, chronic inflammatory diseases, neoplasms, autoimmune diseases, chronic kidney disease and chronic liver diseases.

132 subjects were chosen for the next stage of research in the Sleep Laboratory. These subjects received  $\geq 11$  points in the Epworth Sleepiness Scale, did not suffer from any comorbidities listed above and did not use chronic pharmacotherapy that might have affected the results of the research. The diagnosis of OSA was confirmed by the full-night polysomnography (PSG) with use of the Embla S4000-Remlogic polysomnograph (Somnologica Studio 5.0 software, Natus 2009).

Later, 19 men were excluded from further participation in the study due to *de novo* diagnosis of arterial hypertension, which was found during repeated blood pressure measurements carried out according to current guidelines. Finally, 60 men were chosen for further study and assigned to one of 3 groups, depending on the severity of OSA (1st, 2nd, 3rd stage of OSA).

The control group consisted of 20 age-matched men, in whom OSA was not confirmed in PSG. The anthropometric parameters indicating overweight or obesity, similar to the parameters obtained in the study, were the criteria for inclusion in the control group.

Laboratory tests were performed in both groups, including: the estimation of C-reactive protein, IL-1, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , glucose, total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol and triglycerides. The assessment of carotid *intima-media* thickness was made with the use of a GE Voluson 730 Pro ultrasound machine with the 6-12MHz linear-array imaging probe (General Electric Company, United States of America, 2011).

Statistical analysis was performed with STATISTICA 10.0 for Windows. Two-tailed *p* value  $<0.05$  was considered statistically significant in all tests.

When describing the study group and the control group, no statistically significant differences in age and anthropometric parameters were found. However, this dissertation shows the existence of statistically significant differences in terms of the concentration of CRP in serum between the study group and the control group and generally among all the groups formed according to the disease severity. In terms of IL-1 concentration in serum, a significant difference between the subgroups formed on the basis of OSA severity was observed. The difference between the study group and control group was not noticeable. However, there was a statistically significant difference between the study and the control groups. The concentration of IL-10 below



the reference value was observed in both groups. However, it was lower in the group with OSA compared to its value obtained in the control group. A difference of borderline statistical significance in IL-10 concentration between individual OSA levels was also shown. The highest concentration of discussed cytokine was observed in moderate sleep apnea. Raised IL-6 concentration was found in both the study and the control groups. Increasing IL-6 concentration values in the subgroups selected according to OSA severity attracted attention. There was no statistically significant difference in TNF- $\alpha$  concentration between the study and the control groups, but differences of borderline statistical significance in its concentration values between individual degrees of OBS severity were revealed.

Measurement of intima – media complex thickness was also an important objective of this dissertation. Statistical analysis showed a significant difference in KIM1 and KIM2 between the study group and the control group and statistically significant differences concerning KIM2 values between all substantial degrees of OBS severity. The study protocol also intended to assess the correlation between the thickness of the intima – media complex and the studied variables. A high positive correlation between KIM1 and TNF-alpha concentration and average negative correlation between KIM1 and IL-10 concentration were confirmed. A positive average correlation between KIM2 and CRP was also found. There is no evidence in the literature confirming the relationship between IMT and IL-10 concentration. The negative correlation between these parameters can be explained by the anti-inflammatory action of the discussed cytokines. This problem undoubtedly requires further observation and detailed analysis.

The conclusions were presented:

- 1) Increased thickness of the intima – media complex indicates the presence of vascular complications.
- 2) In subjects with OSA, the increase of CRP level in blood emphasizes the crucial role of inflammation in the disease pathobiochemistry.
- 3) Decreased concentration of prophylactically operating interleukin-10 may be an intermediate exponent of inflammation severity in patients with OSA.

- 4) Coexistence of abdominal obesity, hyperglycemia and a noticeable trend to hypertriglyceridemia could be a predictor of increased risk of vascular disorders in this group of patients.
- 5) Further research on the relationship between the intensity of the inflammatory process and the development and severity of obstructive sleep apnea is reasonable.

## 9. PIŚMIENNICTWO

- [1]. Redline S., Budhijara R., Kapur V. et al.: The scoring of respiratory events in sleep: reliability and validity. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 2007;3(2):169-200.
- [2]. Patil S.P., Schneider H., Schwarz A.R., et al.: Adult obstructive sleep apnea - pathophysiology and diagnosis. *Chest*, 2007;132:325-337.
- [3]. 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.
- [4]. American Academy of Sleep Medicine. International classification of sleep disorders, 2nd ed.: Diagnostic and coding manual. Westchester, Illinois: American Academy of Sleep Medicine 2005.
- [5]. Young T., Plata M., Dempsey J., Skatrud J., Weber S., Badr S.: The occurrence of sleep-disordered breathing in middle-aged adults. *NEJM*, 1993;328:1230-1235.
- [6]. Ancoli-Israel S., Gehrman P., Kripke DF. et al.: Long-term follow up of sleep disordered breathing in older adults. *Sleep Med.*, 2001;2(6):511-516.
- [7]. Pillar G., Lavie P.: Assessment of the role of inheritance in sleep apnea syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*, 1995;151:688-691.
- [8]. Young T., Shahar E., Nieto J., Redline S., et al. for the Sleep Heart Study Research Group. Predictors of sleep-disordered breathing in community-dwelling adults. *Arch. Intern. Med.*, 2002;162:893-900.
- [9]. Duran C.J.: Prevalence of obstructive sleep apnea-hypopnea and related clinical features in the elderly: a population-based study in general population aged 71-100. World Conference 2001 Sleep Odyssey, October 21-26, 2001, Montevideo, Uruguay.
- [10]. Duran J., Esnaola S., Rubio R., Iztueta A.: Obstructive sleep apnea-hypopnea and related clinical features in a population-based sample of subjects aged 30 to 70 yr. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2001;163:685-689.
- [11]. 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.

- [12]. Pływaczewski R.: Częstość i nasilenie zaburzeń oddychania w czasie snu wśród dorosłej populacji prawobrzeżnej Warszawy. Biblioteka rozpraw habilitacyjnych Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc. Tom 8, Warszawa 2003.
- [13]. Enright P.L., Newman A.B., Wahl P.W. et al.: Prevalence and correlates of snoring and observed apneas in 5201 older adults. *Sleep*, 1996;19(7):531-538.
- [14]. Bixler E.O., Vgontzas A.N., Lin Hm. et al.: Prevalence of sleep-disordered breathing in woman: effect of gender. *Am. J. Respir. Care Med.*, 2001;163:608-613.
- [15]. Bixler E.O., Vgontzas A.N., Ten Have T. et al.: Effects of age on sleep apnea in men: prevalence and severity. *Am. J. Respir. Care Med.*, 1998;157:144-148.
- [16]. Parish J.M., Somers V.K., Obstructive sleep apnea and cardiovascular disease, *Mayo Clin. Proc.*, 2004;79(8):1036-1046.
- [17]. Cofta S.: Zespół bezdechu śródseennego, w: *Kompendium Pulmonologiczne*. H. Batura – Gabryel, red. Poznań 2013:315-324.
- [18]. Jennum P., Riha R.L.: Epidemiology of sleep apnoea/ hypopnoea syndrome and sleep – disordered breathing. *Eur. Respir. J.* 2009;33:907-914.
- [19]. Peppard P.E., Young T., Palta M., Dempsey J. et al.: Longitudinal study of moderate weight change and sleep-disordered breathing. *JAMA*, 2000;284:3015-3021.
- [20]. Khan A., Harrison S.L., Kezirian E.J., Ancoli-Israel S. et al.: Obstructive sleep apnea during rapid eye movement sleep, daytime sleepiness, and quality of life in older men in Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Sleep Study.: *J Clin Sleep Med.* 2013;15(9):191-8.
- [21]. 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;15:573-581.
- [22]. Tsai J.C.: Neurological and neurobehavioral sequelae of obstructive sleep apnea. *NeuroRehabilitation* 2010;26:85-94.
- [23]. 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.

- [24]. Bearpark H., Elliott 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.
- [25]. Lowe A.A., Fleetham J.A., Adachi S., Ryan C.F.: Cephalometric and computed tomographic predictors of obstructive sleep apnea severity. *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthoped.*, 1995;107:589-595.
- [26]. 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.
- [27]. 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.
- [28]. Skalski M.: Zaburzenia snu w codziennej praktyce. *Medical Tribune Polska*. 2012;4:142-143.
- [29]. Kishimoto T.: Interleukin-6: discovery of pleiotropic cytokine. *Arthritis Res Ther* 2006;Suppl2:S2.
- [30]. Culig Z., Steiner H., Barlsch G. et al.: Interleukin-6 regulation of prostate cancer cell growth, *J Cell Biochem*, 2005;95:497-505.
- [31]. Salgado R., Junius S., Benoy I., et al.: Circulating interleukin-6 predicts survival in patients with metastatic breast cancer. *Int J Cancer*, 2003;103:642-646.
- [32]. Gołąb J., Jakóbisiak M., Lasek W. I wsp.: Cytokiny, w: *Immunologia*. Warszawa, Wyd. Nauk. PWN, 2002;15:198-205.
- [33]. Scheller J., Ohnesorge N., Rose-John S. et al.: Interleukin-6(IL-6) trans-signaling in chronic inflammation and cancer. *Scand J Immun*, 2006;63:321-329.
- [34]. Ullmann C.D., Schlom J., Greiner J.W.: Interleukin-6 increases carcinoembryonic antigen and histocompatibility leukocyte antigen expression on the surface of human colorectal carcinoma cells. *J Immunother*, 1992;12:231-241.
- [35]. Gaini S., Koldkjaer O.G., Pedersen C. Procalcitonin, lipopolysaccharide binding protein, interleukin-6 and C-reactive protein in infections and sepsis: a prospective study. *Crit Care*, 2006;10:R53.

- [36]. International Diabetes Federation. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. 2005.: [www.idf.org](http://www.idf.org).
- [37]. Gołąb J., Jakóbiński M., Lasek W. et al.: Cytokiny, w: Immunologia, Warszawa, Wyd Nauk PWN, 2002;15:215-217.
- [38]. Gołąb J., Jakóbiński M., Lasek W. et al.: Cytokiny, w: Immunologia. Warszawa, Wyd Nauk PWN, 2002;15:218-219.
- [39]. Podolec P., Tracz W., Hoffman P.: Echokardiografia praktyczna, ISBN, Kraków 2004,tom I:135-147.
- [40]. Polskie Forum Profilaktyki Chorób Układu Krążenia (PFP).[www.pfp.edu.pl](http://www.pfp.edu.pl) 2007/ [www.pfp.edu.pl/index.php?id=wytczynniki](http://www.pfp.edu.pl/index.php?id=wytczynniki).
- [41]. Zasady postępowania w nadciśnieniu tętniczym. Stanowisko Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego, 2003;supl.B:6-9.
- [42]. Chambless L.E., Couper D., Folsom A.R. et al.: Coronary heart disease risk prediction in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *J. Clin. Epidemiol.*, 2003,56(9):880-890.
- [43]. Aminbakhsh A., Mancini G.B.: Carotid intima – media thickness measurements: What defines abnormality? A systematic review, *Clin. Invest Med*, 1999,22(4):149-157.
- [44]. Phillips B.G., Kato M., Narkiewicz M., Choe K. et al.: Increases in leptin levels, sympathetic drive and weight gain in obstructive sleep apnea. *Am. J. Physiol.*, 2000;279:234-237.
- [45]. Lavie P., Herer P., Hoffstein V.: Obstructive sleep apnea syndrome as a risk factor for hypertension: population study *BMJ*, 2000;320:479-4820.
- [46]. Peppard P. et al.: Prospective study of the association between sleep-disordered breathing sleep apnea and hypertension in a large community - based study, *JAMA*, 2000,283:1829-1836.
- [47]. Peker Y., Kraiczi H., Hedner J. et al.: An independent association between obstructive sleep apnea and coronary artery disease. *Eur Respir J*, 1999;14:179-84.
- [48]. Moe T., Franklin K.A., Holström K. et al.: Sleep-disordered breathing and coronary artery disease-long term prognosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2001;164:1910-1913.

- [49]. Eijiro O., Takahide N., Tetsuji T. et al.: Increased levels of circulating ICAM-1, VCAM-1 and L-selectin in obstructive sleep apnea syndrome. *J Appl Physiol*, 1999;87:10-14.
- [50]. El-Solh A.A., Mador M.J., Sikka P. et al.: Adhesion molecules with patients with coronary artery disease and moderate to severe obstructive sleep apnea. *Chest*, 2002;121:1541-1547.
- [51]. Luc G., Bard J.M., Juhan – Vague I. et al.: C-reactive protein, interleukin-6 and fibrinogen as predictors of coronary heart disease: the PRIME study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 2003;23:1255-1261.
- [52]. Rokit Budhiraja R., Parthasarathy S., Stuart F. et al.: Endothelial dysfunction in obstructive sleep apnea. *J Clin Sleep Med*, 2007;3(4):409-415.
- [53]. Ruf A., Morgenstern E.: Ultrastructural aspects of platelet adhesion on subendothelial structures. *Semin Thromb Hemost*, 1995;21:119-122.
- [54]. Głównczyńska R., Kukwa W., Opolski G.: Choroby serca – powikłania u chorych na OBPS. *Pneumonol. Alergol. Pol.*, 2007;75,suppl.1:50-56.
- [55]. Peker Y., Carlson J., Hedner J.: Increased incidence of coronary artery disease in sleep apnea: long-term follow-up. *Eur Respir J*, 2006;28:596-602.
- [56]. McNicholas W.T, Bonsignore M.R. and the Management Committee of EU COST ACTION B26: Sleep apnea as an independent risk factor for cardiovascular disease: current evidence, basic mechanisms and research priorities. *Eur Respir J*, 2007;29:156-178.
- [57]. 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.
- [58]. Zieliński J., Pływaczewski R., Bednarek M.: Zaburzenia oddychania w czasie snu. PZWL, Warszawa 2006.
- [59]. 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.
- [60]. Yaggi H.K., Concato J., Kernan N.W., Lichtman H.J. et al.: Obstructive sleep apnea as a risk factor for stroke and death. *N Eng J Med*, 2005;353:2034-2042.
- [61]. Lopes C., Esteves A.M., Bittencourt L.R., Tufik S., Mello M.T.: Relationship between the quality of life and the severity of obstructive sleep apnea syndrome. *Braz J Med Biol Res*, 2008;41:908-13.

- [62]. 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.
- [63]. Assoumou H.G., Gaspoz J.M., Sforza E., Pichot V. et al.: Obstructive sleep apnea and the metabolic syndrome in an elderly healthy population: the SYNAPSE cohort. *Sleep Breath*. doi:10.1007/s11325-011-0593-y, PMID:21927990.
- [64]. Drager L.F., Jun J., Polotsky V.Y.: Obstructive sleep apnea and dyslipidemia: implications for atherosclerosis. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2010;17:161–165.
- [65]. Bounhoure J.P., Galinier M., Didier A., Leophonte P.: Sleep apnea syndromes and cardiovascular disease. *Bull Acad Natl Med.*, 2005;189(3):445–464.
- [66]. Semenza G.L.: Regulation of oxygen homeostasis by hypoxia-inducible factor 1. *Physiology*, 2009;24(2):97–106.
- [67]. Prabhakar N.R., Kumar G.K., Peng Y.J.: Sympathoadrenal activation by chronic intermittent hypoxia. *Journal of Applied Physiology*, 2012;113:1304–1310.
- [68]. Lafontan M., Langin D.: Lipolysis and lipid mobilization in human adipose tissue. *Progress in Lipid Research*, 2009;5(48):275–297.
- [69]. Barceló A., Piérola J., de la Peña M. et al.: Free fatty acids and the metabolic syndrome in patients with obstructive sleep apnea. *European Respiratory Journal*, 2011;6(37):1418–1423.
- [70]. Faiz F., Hooper A.J., van Bockxmeer F.M.: Molecular pathology of familial hypercholesterolemia, related dyslipidemia and therapies beyond the statins. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 2012;49:1–17.
- [71]. Sniderman A.D., de Graaf J., Couture P.: Low-density lipoprotein-lowering strategies: target versus maximalist versus population percentile. *Current Opinion in Cardiology*, 2012;(27):405–411.
- [72]. Kawano Y., Tamura A., Kadota J.: Association between the severity of obstructive sleep apnea and the ratio of low-density lipoprotein cholesterol to high-density lipoprotein cholesterol. *Metabolism*, 2012;61:186–192.
- [73]. Tan K.C., Chow W.S., Lam J.C. et al.: HDL dysfunction in obstructive sleep apnea. *Atherosclerosis*, 2006;184:377–382.
- [74]. Johns M.W.: A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth Sleepiness Scale. *Sleep*, 1991;14:540-545.



- [75]. Johns M.W.: Daytime sleepiness, snoring and obstructive sleep apnea. The Epworth Sleepiness Scale. *Chest*, 1993;103(1):30-36.
- [76]. Ferber R., Millman R., Coppola M., Fleetham J., Murray C.F., Iber C., McCall V., Nino-Murcia G., Pressman M., Sanders M. et al.: *Sleep*, 1994;17:378-92.
- [77]. Chesson A.L.Jr, 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;26:907-13.
- [78]. 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.
- [79]. 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.
- [80]. Chokroverty S., Bhatt M., Thomas R.J. : *Atlas of Sleep Medicine*, Elsevier, Philadelphia, 2005/ Shneerson J.M.: *Sleep Medicine: A Guide to Sleep and its Disorders*. Blackwell Publishing, Malden, 2005.
- [81]. Thomas R.J.: Cyclic alternating pattern and positive airway pressure titration. *Sleep Med*, 2002;3:315-322.
- [82]. Mancia G., Fagard R., Narkiewicz K., Redon J. et al.: 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Journal of Hypertension* 2013; 31:1281-1357.
- [83]. Touboul P.J., Hennerici M.G., Meairs S. et al.: Mannheim intima - media thickness consensus. *Cerebrovasc Dis*, 2007;23(1):75-89.
- [84]. Shochat T., Pillar G.: Sleep apnea in the older adult: pathophysiology, epidemiology, consequences and management. *Drugs Aging*, 2003;20(8):551-560.
- [85]. Young T., Paul E., Peppard J. et al: Epidemiology of obstructive sleep apnea: a population health perspective. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002;166:1217-1239.

- [86]. Ogólnopolskie i regionalne rozpowszechnienie głównych czynników ryzyka układu sercowo-naczyniowego. Wyniki ogólnopolskiego badania stanu zdrowia ludności program WOBASZ. *Kardiologia Polska*, 2005;63(Suppl.4):614-685.
- [87]. Punjabi N.M.: The epidemiology of adult sleep apnea. *Proc Am Thorac Soc*, 2008,5:136-143.
- [88]. Babińska Z., Gnaciska M., Zdrojewski T. i wsp. Związek nadwagi i otyłości z podwyższonymi wartościami ciśnienia tętniczego u 40- i 50-letnich mieszkańców Sopotu na podstawie wyników Sopotkiego Programu Profilaktyki Kardiologicznej SOPKARD. *Nadciśnienie Tętnicze*, 2002;4:23.
- [89]. Ogawa K.I., Ueda K., Sasaki H. et al.: History of obesity as a risk factor for both carotid atherosclerosis and microangiopathy. *Diabetes Res Clin Prac.*, 2004;66(Suppl 1):65-68.
- [90]. Mariani S., Fiore D., Barbaro G., Basciani S. et al.: Association of epicardial fat thickness with the severity of obese patients. *Int J Cardiol*, 2013;167(5):2244-2249.
- [91]. Clarenbach C.F., West S.D., Kohler M.: Is obstructive sleep apnea a risk factor for diabetes? *Discov Med*, 2011;12:17-24.
- [92]. Montesi S., Bajwa E. et al.: Biomarkers of sleep apnea. *Chest*, 2012;142(1):239-245.
- [93]. Steiropoulos P., Papanas N., Nena E., et al.: Inflammatory markers in Middle-aged obese subjects: does obstructive sleep apnea play a role? *Mediators Inflamm*, 2010;2:675-690.
- [94]. Nadeem R., Molnar J., Madbouly E.M., Nida M., Aggarwal S., Sajid H., Naseem J., Loomba R.: Serum inflammatory markers in obstructive sleep apnea: a meta-analysis. *J Clin Sleep Med*, 2013;9(10):1003-12.
- [95]. Lui M.M., Lam J.C., Mak H.K. et al.: C – reactive protein in patients with obstructive sleep apnea independent of visceral obesity. *Chest*, 2009;135(4):950-956.
- [96]. Yokoe T., Minoguchi K., Matsuo H., Oda N. et al.: Elevated levels of C-reactive protein and interleukin-6 in patients with obstructive sleep apnea syndrome are decreased by nasal continuous positive airways pressure. *Circulation*, 2003;107(8):1129-1134.

- [97]. Lapuente Torrents A., Barreiro B., Alsina M., Lozano L.: Alteration of inflammatory mediators in patients with obstructive sleep apnea. *Chest*, 2014;145(3 Suppl):581-583.
- [98]. 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(2):149-156.
- [99]. Can M., Acikgoz S., Mungan G., Bayraktaroglu T. et al.: Serum cardiovascular risk factors in obstructive sleep apnea. *Chest*, 2006;129:233-237.
- [100]. Saletu M., Nosiska D., Kapfhammer G., Lalouschek W. et al.: Structural and serum surrogate of cerebrovascular disease in obstructive sleep apnea (OSA): association of mild OSA with early atherosclerosis. *J Neurol*, 2006;253:746-752.
- [101]. Salord N., Gasa M., Mayos M., Fortuna- Gutierrez A.M. et al.: Impact of OSA on biological markers in morbid obesity and metabolic syndrome. *J Clin Sleep Med*, 2014;10(3):263-270.
- [102]. Shearer W.T., Reuben J.M., Mullington J.M. et al.: Soluble TNF- $\alpha$  receptor 1 and IL-6 plasma levels in humans subjected to the sleep deprivation model of spaceflight. *J Allergy Clin Immuno.*, 2001;107:165–70.
- [103]. Meier-Ewert H.K., Ridker P.M., Rifai N. et al.: Effect of sleep loss on C-reactive protein, an inflammatory marker of cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol*, 2004;43:678–83.
- [104]. Haack M., Sanchez E., Mullington J.M.: Elevated inflammatory markers in response to prolonged sleep restriction are associated with increased pain experience in healthy volunteers. *Sleep*, 2007;30(9):1145–52.
- [105]. Patel S.R., Zhu X., Storfer-Isser A., Mehra R., Jenny N.S., Tracy R., Redline S.: Sleep duration and biomarkers of inflammation. *Sleep*, 2009;32(2):200–204.
- [106]. Frey D.J., Fleshner M., Wright K.P.Jr: The effects of 40 hours of total sleep deprivation on inflammatory markers in healthy young adults. *Brain Behav Immun* 2007;21(8):1050-1057.
- [107]. Niżankowska-Jędrzejczyk A., Almeida F.R., Lowe A.A., Kania A. et al.: Modulation of inflammatory and hemostatic markers in obstructive sleep apnea patients treated with mandibular advancement splints; a parallel, controlled trial. *J Clin Sleep Med*, 2014;10(3):255-262.

- [108]. Akashiba T., Akahoshi T., Kawahara S., Majima T. et al.: Effects of long – term nasal continuous positive airway pressure on C-reactive protein in patients with sleep apnea syndrome. *Intern Med*, 2005;44:899-900.
- [109]. Kohler M., Ayers L., Pepperell J.C., Packwood K.L. et al.: Effects of continuous positive airway pressure on systemic inflammation in patients with moderate to severe obstructive sleep apnea: a randomized controlled trial. *Thorax* 2009;64:67-73.
- [110]. Silvestrini M., Rizzato B., Placidi F. et al.: Carotid artery wall thickness in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Stroke*, 2002,33:1782-1785.
- [111]. Schulz R., Seeger W., Fegbeutel C. et al.: Changes in extracranial arteries in obstructive sleep apnea. *Eur Respir J*, 2005,25:69-74.
- [112]. Gorzewska A.: Ocena wybranych parametrów układu sercowo-naczyniowego u pacjentów z obturacyjnym bezdechem sennym. Rozprawa doktorska, Gdańsk 2008,83-84.
- [113]. Drager L.F., Bortolotto L.A., Lorenzi M.C. et al.: Early signs of atherosclerosis in obstructive sleep apnea. *Am J Crit Care Med*, 2005;172:613-618.
- [114]. Tanriverdi H., Evrengul H., Kara C.O. et al.: Aortic stiffness flow - mediated dilatation and carotid intima – media thickness in obstructive sleep apnea. *Respiration*, 2006;73:741-750.
- [115]. Fox N., Ayas N., Park J.E., Fleetham J., Frank Ryan C., Lear S.A., Mulgrew A., Chan S., Hill J., John Mancini G.B., Wong G.C.: Carotid intima - media thickness in patients with obstructive sleep apnea: comparison with a community-based cohort. *Lung*, 2014;192(2):297-303.
- [116]. Ciccone M., Scicchitano P., Zito A., Cortese F.: Correlation between inflammatory markers of atherosclerosis and carotid intima - media thickness in obstructive sleep apnea. *Molecules* 2014;19(2):1651-1662.
- [117]. Testelmans D., Tamisier R., Barone-Rochette G., Baquet J.P. et al.: Profile of circulating cytokines: impact of OSA, obesity and acute cardiovascular events. *Cytokine*, 2013;62(2):210-216.
- [118]. 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.
- [119]. Botros N., Concato J., Mohsenin V., Selim B. et al.: Obstructive sleep apnea as a risk factor for type 2 diabetes. *Am J Med*, 2009;122:1122-1127.

- [120]. Kent B.D., Grote L., Ryan S., Pepin J.L.: Diabetes mellitus prevalence and control in sleep disordered breathing: the European Sleep Apnea Cohort (ESADA) study. *Chest* 2014 May 15. doi: 10.1378/chest.13-2403.
- [121]. Gami A.S., Somers V.K.: Obstructive sleep apnea, metabolic syndrome and cardiovascular outcomes. *Eur Heart J*, 2004;25:709-711.
- [122]. Nicholls S.J., Tuzcu E.M., Sipahi I., Grasso A.W. et al.: Statins, high-density lipoprotein cholesterol and regression of coronary atherosclerosis. *JAMA*, 2007;297:499-508.
- [123]. Marshall N.S., Wong K.K., Liu P.Y., Cullen S.R. et al.: Sleep apnea as an independent risk factor for all- cause mortality: the Busselton Health Study. *Sleep*, 2008;31:1079-1085.
- [124]. MacMahon S., Sharpe N., Gamble G. et al.: Effects of lowering average or below-average cholesterol levels on the progression of carotid atherosclerosis: Results of the LIPID atherosclerosis substudy. *Circulation*, 1998;97(18):1784-1790.
- [125]. Cuspidi C., Mancia G., Zanchetti A. et al.: Left ventricular and carotid structure in untreated, uncomplicated essential hypertension: Results from the Assessment Prognostic Risk Observational Survey (APROS). *J Hum Hypertens*, 2004;18(12):891-896.

## 10. SPIS RYCIN

<b>Ryc.1.</b> Mężczyzna z obturacyjnym bezdechem sennym w trakcie badania polisomnograficznego.....	11
<b>Ryc.2.</b> Zapis polisomnograficzny pacjenta.....	24
<b>Ryc.3.</b> Ocena grubości kompleksu intima – media w dystalnym odcinku tętnicy szyjnej wspólnej lewej w przekroju poprzecznym (zdjęcie po stronie lewej) i podłużnym naczynia (zdjęcie po stronie prawej).....	26
<b>Ryc.4.</b> Schemat seryjnego rozcieńczania wzorca w oznaczaniu cytokin.....	27
<b>Ryc.5.</b> Mechanizm reakcji chemicznych w oznaczaniu stężenia TCHOL.....	29
<b>Ryc.6.</b> Mechanizm reakcji chemicznych w oznaczaniu stężenia HDL-C.....	30
<b>Ryc.7.</b> Mechanizm reakcji chemicznych w oznaczaniu stężenia LDL-C.....	30
<b>Ryc.8.</b> Mechanizm reakcji chemicznych w oznaczaniu stężenia TAG.....	31
<b>Ryc.9.</b> Mechanizm reakcji chemicznych w oznaczaniu stężenia glukozy.....	32
<b>Ryc.10.</b> Rozkład procentowy chorób współistniejących w grupie 77 pacjentów, którzy nie zostali włączeni do dalszego etapu badania.....	36
<b>Ryc.11.</b> Wartość BMI w grupie badanej i w grupie kontrolnej.....	38
<b>Ryc.12.</b> Wartość BMI w grupie badanej z uwzględnieniem poszczególnych stopni bezdechu: OBS-1, OBS-2, OBS-3.....	38
<b>Ryc.13.</b> Wartość AHI w grupie badanej i w grupie kontrolnej.....	39
<b>Ryc.14.</b> Wartość AHI w grupie badanej z uwzględnieniem poszczególnych stopni bezdechu: OBS-1, OBS-2, OBS-3.....	40
<b>Ryc.15.</b> Różnice pomiędzy KIM1 w grupie kontrolnej i badanej.....	43
<b>Ryc.16.</b> Różnice pomiędzy KIM2 w grupie kontrolnej i badanej.....	44
<b>Ryc.17.</b> Różnice pomiędzy KIM1 w poszczególnych stopniach zaawansowania choroby: OBS-1, OBS-2, OBS-3.....	45
<b>Ryc.18.</b> Różnice pomiędzy KIM2 w poszczególnych stopniach zaawansowania choroby: OBS-1, OBS-2, OBS-3.....	46
<b>Ryc.19.</b> Wartość stężenia CRP w grupie kontrolnej i w grupie badanej.....	47
<b>Ryc.20.</b> Wartość stężenia CRP w grupie badanej w poszczególnych stopniach bezdechu: OBS-1, OBS-2, OBS-3.....	47
<b>Ryc.21.</b> Wartość stężenia IL-1 w grupie kontrolnej i w grupie badanej.....	48
<b>Ryc.22.</b> Wartość stężenia IL-1 w grupie badanej w poszczególnych stopniach bezdechu: OBS-1, OBS-2, OBS-3.....	49

<b>Ryc.23.</b> Wartość stężenia IL-6 w grupie kontrolnej i w grupie badanej.....	50
<b>Ryc.24.</b> Wartość stężenia IL-6 w grupie badanej w poszczególnych stopniach bezdechu: OBS-1, OBS-2, OBS-3.....	50
<b>Ryc.25.</b> Wartość stężenia IL-10 w grupie kontrolnej i w grupie badanej.....	51
<b>Ryc.26.</b> Wartość stężenia IL-10 w grupie badanej w poszczególnych stopniach bezdechu: OBS-1, OBS-2, OBS-3.....	52
<b>Ryc.27.</b> Wartość stężenia TNF- $\alpha$ w grupie kontrolnej i w grupie badanej.....	53
<b>Ryc.28.</b> Wartość stężenia TNF- $\alpha$ w grupie badanej w poszczególnych stopniach bezdechu: OBS-1, OBS-2, OBS-3.....	53
<b>Ryc.29.</b> Wartość stężenia glukozy w grupie kontrolnej i w grupie badanej.....	54
<b>Ryc.30.</b> Wartość stężenia glukozy w grupie badanej w poszczególnych stopniach bezdechu: OBS-1, OBS-2, OBS-3.....	55
<b>Ryc.31</b> Wartość stężenia cholesterolu całkowitego: TCHOL w grupie kontrolnej i w grupie badanej.....	56
<b>Ryc.32.</b> Wartość stężenia cholesterolu całkowitego: TCHOL w grupie badanej w poszczególnych stopniach bezdechu: OBS-1, OBS-2, OBS-3.....	56
<b>Ryc.33.</b> Wartość stężenia cholesterolu frakcji HDL: HDL-C w grupie kontrolnej i w grupie badanej.....	57
<b>Ryc.34.</b> Wartość stężenia cholesterolu frakcji HDL: HDL-C w grupie badanej w poszczególnych stopniach bezdechu: OBS-1, OBS-2, OBS-3.....	58
<b>Ryc.35.</b> Wartość stężenia cholesterolu frakcji LDL: LDL-C w grupie kontrolnej i w grupie badanej.....	59
<b>Ryc.36.</b> Wartość stężenia cholesterolu frakcji LDL: LDL-C w grupie badanej w poszczególnych stopniach zaawansowania schorzenia: OBS-1, OBS-2, OBS-3.....	59
<b>Ryc.37.</b> Wartość stężenia triglicerydów: TAG w grupie kontrolnej i w grupie badanej.....	60
<b>Ryc.38.</b> Wartość stężenia triglicerydów: TAG w grupie badanej w poszczególnych stopniach bezdechu: OBS-1, OBS-2, OBS-3.....	61
<b>Ryc.39.</b> Korelacja pomiędzy KIM1 a AHI.....	63
<b>Ryc.40.</b> Korelacja pomiędzy KIM1 a IL-10.....	63
<b>Ryc.41.</b> Korelacja pomiędzy KIM1 a TNF- $\alpha$ .....	64
<b>Ryc.42.</b> Korelacja pomiędzy KIM1 a BMI.....	64
<b>Ryc.43.</b> Korelacja pomiędzy KIM2 a AHI.....	65
<b>Ryc.44.</b> Korelacja pomiędzy KIM2 a CRP.....	65

<b>Ryc.45.</b> Korelacja pomiędzy KIM2 a BMI.....	66
<b>Ryc.46.</b> Korelacja pomiędzy AHI a CRP.....	67
<b>Ryc.47.</b> Korelacja pomiędzy AHI a TCHOL.....	68
<b>Ryc.48.</b> Korelacja pomiędzy AHI a glukozą.....	68
<b>Ryc.49.</b> Korelacja pomiędzy AHI a TAG.....	68
<b>Ryc.50.</b> Korelacja pomiędzy AHI a TNF- $\alpha$ .....	69
<b>Ryc.51.</b> Diagram drzewa – metoda Warda dla parametrów: BMI, AHI, CRP, IL-1, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , KIM1, KIM2 w ocenie jednorodności skupień.....	70
<b>Ryc.52.</b> Diagram drzewa – metoda Warda dla analizy zmiennych: wiek, BMI, AHI, CRP, IL-1, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , KIM1, KIM2, TCHOL, LDL-C, HDL-C, TAG, glukoza.....	72



## 11. SPIS TABEL

<b>Tabela 1.</b> Skala senności Epworth.....	22
<b>Tabela 2.</b> Charakterystyka grupy z OBS i grupy kontrolnej w zakresie wieku i parametrów antropometrycznych.....	37
<b>Tabela 3.</b> Test Kruskala-Wallisa z testem Dunna dla ryc.12.....	39
<b>Tabela 4.</b> Test Kruskala-Wallisa z testem Dunna dla ryc.14.....	40
<b>Tabela 5.</b> AHI, BMI, KIM1, KIM2, wskaźniki stanu zapalnego oraz parametry gospodarki węglowodanowej i lipidowej w grupie pacjentów z OBS .....	41
<b>Tabela 6.</b> AHI, BMI, KIM1, KIM2, wskaźniki stanu zapalnego oraz parametry gospodarki węglowodanowej i lipidowej w grupie pacjentów w grupie kontrolnej.....	41
<b>Tabela 7.</b> Ocena istotności różnic pomiędzy KIM w grupie badanej i kontrolnej test U Manna – Whitney’a.....	43
<b>Tabela 8.</b> Test Kruskala-Wallisa z testem Dunna dla ryc.17.....	45
<b>Tabela 9.</b> Test Kruskala-Wallisa z testem Dunna dla ryc.18.....	46
<b>Tabela 10.</b> Test Kruskala-Wallisa z testem Dunna dla ryc.20.....	48
<b>Tabela 11.</b> Test Kruskala-Wallisa z testem Dunna dla ryc.22.....	49
<b>Tabela 12.</b> Test Kruskala-Wallisa z testem Dunna dla ryc.30.....	55
<b>Tabela 13.</b> Test Kruskala-Wallisa z testem Dunna dla ryc. 38.....	61
<b>Tabela 14.</b> Korelacje pomiędzy KIM1 a wybranymi parametrami w grupie z OBS i grupie kontrolnej.....	62
<b>Tabela 15.</b> Korelacje pomiędzy KIM2 a wybranymi parametrami w grupie z OBS i grupie kontrolnej.....	62
<b>Tabela 16.</b> Korelacje pomiędzy wiekiem, AHI i BMI a wybranymi parametrami w grupie z OBS i grupie kontrolnej.....	66

## 12. ZAŁĄCZNIKI

### Załącznik nr 1. Zgoda na udział w badaniu

Szanowni Państwo,

zwracam się z prośbą o wyrażenie zgody na udział w badaniu, pt. „Ocena wybranych wskaźników procesu zapalnego i grubości kompleksu intima – media u pacjentów z obturacyjnym bezdechem sennym”. Badanie to zostanie przeprowadzone w Katedrze i Klinice Pulmonologii, Alergologii i Onkologii Pulmonologicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu oraz w Poradni Przyklinicznej, w ramach rozprawy doktorskiej.

W trakcie badania Pacjent jest proszony o wypełnienie ankiety, przeprowadzenie badania przedmiotowego, udział w pobraniu krwi do oznaczeń laboratoryjnych oraz w badaniu ultrasonograficznym tętnic szyjnych.

Wszystkie informacje uzyskane od Pana przy przeprowadzaniu wywiadów oraz wyniki badań są objęte tajemnicą lekarską.

Z poważaniem,  
lek. med. Magdalena Kostrzevska

---

Po uzyskaniu informacji określających cel oraz przebieg badania wyrażam świadomą zgodę na udział w badaniu.

Imię i nazwisko

Podpis

Podpis lekarza/badacza

## Załącznik nr 2. Kwestionariusz ankiety

Uniwersytet Medyczny  
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu  
Wydział .....

.....  
Nr ankiety

### KWESTIONARIUSZ ANKIETY

Szanowni Państwo!

Zwracam się z prośbą o wzięcie udziału w przeprowadzanym badaniu, które ma na celu uzyskanie informacji na temat: „**Oceny wybranych wskaźników procesu zapalnego i grubości kompleksu intima – media u pacjentów z obturacyjnym bezdechem sennym**”. Jednocześnie chciałabym Państwa zapewnić o poufności badań. Zebrane dane i informacje będą analizowane w formie zbiorczej wyłącznie w celu naukowym.

Proszę o udzielenie odpowiedzi, **zakreślając** odpowiednie pole przy dokonanej wyборze. W wykropkowanych miejscach proszę o wpisanie odpowiedzi literami drukowanymi.

.....  
*Imię Nazwisko*

**Wiek [lata]:** .....

**Wykształcenie:**

podstawowe       zasadnicze       średnie       wyższe

**Zawód wykonywany:**

praca umysłowa       praca fizyczna       emeryt       rencista       bezrobotny

**Miejsce zamieszkania:**

miasto       wieś

**1. Jak często w ciągu tygodnia uprawia Pan aktywność fizyczną?**

(jazda na rowerze, bieg, pływanie, gra w piłkę, spacer itp.)

wcale       1 raz       2-3 razy       powyżej 3 razy

**2. Czy pali Pan regularnie papierosy?**

tak       nie

• jeżeli tak, to ile sztuk?

do 10       11-20       21-30       powyżej 30

• jeżeli tak, to ile lat?

**3. Czy przebył Pan zawał serca?**

tak       nie

**4. Czy przeżył Pan udar mózgu?**

- tak                     nie

**5. Na którą z poniższych chorób obecnie się Pan leczy?**

- choroba niedokrwienna serca  
 nadciśnienie tętnicze  
 hiperlipidemia  
 cukrzyca typu 2

**6. Proszę wymienić stosowane przez Pana**

**leki:.....**

(pytanie dotyczy pacjentów, którzy udzielili twierdzącej odpowiedzi na pytania nr 3, 4 i 5).

**7. Proszę o podanie swojego:**

wzrostu ..... [cm]

wagi ..... [kg]

obwodu talii..... [cm]

**Serdecznie dziękuję za poświęcony czas i wypełnienie ankiety**