

Streszczenie

Osoby z obturacyjnym bezdechem sennym charakteryzują się wyższym ryzykiem incydentów sercowo-naczyniowych. Terapia CPAP, zgodnie z wynikami wielu prac, zmniejsza to ryzyko, jednakże w stopniu niewystarczającym. Patofizjologia związana z obturacyjnym bezdechem sennym i nawracającymi epizodami hipoksji i reoksygenacji obejmuje szereg zmian w zakresie śródbłonna naczyniowego, jak również elementów morfotycznych krwi, a w szczególności erytrocytów. Z uwagi na obecność niezależnej syntazy tlenu azotu (NOS) i jej głównego inhibitora ADMA w erytrocytach oraz na podkreślaną rolę tlenu azotu w rozwoju dysfunkcji śródbłonna naczyniowego, postanowiono zbadać jego biodostępność w bezdechu sennym zarówno w osoczu jaki i w erytrocytach.

Do badania kwalifikowano osoby z podejrzeniem OBS w przedziale 30-70 lat. Do grupy badanej włączono 46 osób, od których pobrano około 40 ml krwi żyłnej celem analizy podstawowych parametrów biochemicznych służących do oceny ryzyka sercowo-naczyniowego oraz badań biochemicznych oceniających osoczowe i wewnątrz-erytrocytarne elementy osi biotransformacji NO. Po przeprowadzeniu polisomnografii, pacjentów podzielono na podgrupy w zależności od ciężkości OBS. U każdego pacjenta wykonano nieinwazyjną ocenę wazodylatacyjnej funkcji śródbłonna naczyniowego za pomocą przepływowierza laserowego (*Laser-Doppler*). U pacjentów, u których wdrożono terapię CPAP przeprowadzono ponowną prospektywną ewaluację funkcji śródbłonna - *follow-up* w 1-roczej obserwacji i oznaczono metabolity szlaku tlenu azotu po około roku od rozpoczęcia regularnego stosowania terapii.

W rezultacie stwierdzono brak różnic w stężeniu asymetrycznej dimetyloargininy (ADMA) wewnątrz erytrocytów w zależności od ciężkości bezdechu. Stężenie ADMA w osoczu było najczęściej około 2 razy większe niż w erytrocytach, wskazując tym samym, że erytrocyty mogą stanowić wysokoobjętościowy układ buforowy dla tego inhibitora. Leczenie bezdechu sennego CPAP nie indukowało istotnej statystycznie poprawy funkcji śródbłonna, jednak wiązało się z tendencją do zwiększonej odpowiedzi wazodylatacyjnej na bodziec termiczny w badaniu *Laser Doppler Flowmetry* (LDF). L-Cytrulina, której obniżone osoczowe stężenie stwierdzono u osób ze średnim i ciężkim OBS, jako substrat w reakcji syntezy L-Argininy, może stanowić pierwszy osoczowy marker zmniejszającej się biodostępności tlenu azotu. Kardiometaboliczne markery ryzyka sercowo-naczyniowego, jak stężenie kwasu moczowego i insuliny na czczo oraz hsCRP lepiej korelowały ze stopniem ciężkości OBS niż zmiany dotyczące wykładników biodostępności tlenu azotu.

Wyniki naszego badania stanowią krok naprzód w zrozumieniu roli erytrocytów w regulacji biodostępności NO, jednak przy złożoności mechanizmów regulujących jego syntezę konieczne są dalsze szczegółowe badania. Brak różnic w stężeniach metabolitów regulujących bioaktywność NO u osób z OBS jeszcze bez zaawansowanych zmian naczyniowych jest wynikiem zwiększonej odpowiedzi mechanizmów kompensacyjnych w odpowiedzi na zwiększony stres oksydacyjny. Brak korelacji pomiędzy osoczowym i wewnątrz-erytrocytarnym stężeniem ADMA przemawia za częściową niezależnością tych dwóch kompartmentów, a także znacznej roli transportu przez błonę w regulacji stężeń aminokwasów i innych molekuł pomiędzy komórkami śródbłonna, osoczem i erytrocytami.

SUMMARY

Patients with obstructive sleep apnea are characterized by higher risk of cardiovascular events. Treatment with CPAP in a vast majority of studies was shown to reduce this risk but in an insufficient manner. The pathophysiology associated with sleep apnea and recurrent episodes of hypoxia and reoxygenation includes a number of changes in the vascular endothelium as well as morphotic elements, in particular erythrocytes. Due to the presence of an independent nitric oxide synthase (NOS) and its main inhibitor ADMA in erythrocytes, and the emphasized role of nitric oxide in the development of vascular endothelial dysfunction, it was decided to investigate its bioavailability in sleep apnea, both in plasma and in erythrocytes.

Subjects with suspected OSA aged 30-70 were qualified for the study. The study group included 46 people, from whom approximately 40 ml of venous blood was collected for the analysis of basic biochemical parameters assessing cardiovascular risk and biochemical tests assessing plasma and intra-erythrocytic elements of the NO biotransformation axis. After polysomnography, patients were divided into subgroups according to the severity of the apnea. Each patient underwent a non-invasive assessment of the endothelium function using a Laser Doppler Flowmetry (LDF). In patients with CPAP therapy, a prospective re-evaluation of endothelial function was performed - follow-up in a 1-year follow-up and the metabolites of the nitric oxide pathway were determined after about a year from the start of regular therapy.

As a result, there was no statistically significant difference in the concentration of asymmetric dimethylarginine (ADMA) - a competitive inhibitor of nitric oxide synthase - inside erythrocytes depending on the severity of apnea. The concentration of ADMA in plasma was usually about 2 times higher than in erythrocytes, hence erythrocytes may constitute a high-volume buffer system for this inhibitor. Treatment of sleep apnea with the CPAP did not induce a statistically significant improvement in endothelial function, however, it was associated with a trend to rising vasodilative response to a thermal stimulus measured by the Laser Doppler Flowmetry (LDF). L-Citrulline, a substrate in the L-Arginine synthesis, may be the first plasma marker of decreasing bioavailability of nitric oxide, as lower plasma concentration of L-Citrulline was found in subjects with moderate and severe apnea. Cardiometabolic markers of cardiovascular risk, such as uric acid, fasting insulin concentrations, and hsCRP, correlated better with the severity of sleep apnea than changes in markers of nitric oxide bioavailability.

The results from this prospective study are a step forward in understanding of the role of the erythrocyte compartment in regulation of the NO synthesis, however, due to the complexity of NO bioavailability, additional detailed studies are needed. We conclude that the lack of differences in the measured metabolites regulating NO bioactivity in subjects with sleep apnea without advanced vascular changes could be explained by increased compensatory mechanisms caused by oxidative stress. The lack of correlation between the plasma and intra-erythrocyte ADMA concentration suggests partial independence of these two compartments, as well as the important role of transmembrane transport in regulating the concentrations of amino acids and other molecules between the endothelium, plasma and erythrocytes.