

A szisztémás gyulladás és a dyslipidaemia szerepe az obstruktív alvási apnoe patomechanizmusában

Doktori tézisek

Dr. Mészáros Martina

Rácz Károly Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola
Semmelweis Egyetem



Témavezető: Dr. Bikov András PhD, klinikai szakorvos

Hivatalos bírálók:

Dr. Eszes Noémi PhD, egyetemi adjunktus

Dr. Ruzsics István PhD, egyetemi adjunktus

Szigorlati bizottság elnöke

Prof. Dr. Purebl György, egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai:

Prof. Dr. Torzsa Péter, egyetemi tanár

Dr. Vizi Éva PhD, főorvos

Budapest

2022

1. Bevezetés

Az obstruktív alvási apnoe (OSA) gyakran abnormális lipidprofillal társul, beleértve az emelkedett összkoleszterin (TC), triglicerid (TG), LDL-koleszterin (LDL-C) és csökkent HDL-koleszterin (HDL-C) szinteket. Az OSA-val összefüggő metabolikus diszfunkció létrejöttében az intermittáló hipoxia (IH), az alvásfragmentáció, az oxidatív stressz és a következményes szisztémás gyulladás kiemelkedő szerepet játszik. Mindezek következtében a fokozott perifériás lipolysis, elégtelen lipoprotein clearance, illetve a máj megváltozott lipid szintézise dyslipidaemia kialakulásához vezet OSA-ban. Más fontos mechanizmusok, mint például a genetikai tényezők szintén szerepet játszanak a metabolikus diszfunkcióban OSA-ban. Számos gyulladásgátló- és antioxidáns tulajdonságokkal bíró biomarker, mely szabályozza a lipid anyagcserét, fontos szerepet tölthet be az OSA-asszociált metabolikus diszfunkcióban is. A nagy molekulású hialuronsav (HMW-HA) egy fontos glükózaminoglikán, mely a hyaluronidáz (HYAL) enzim által degradálódik hypoxiás és gyulladássos folyamatok során. A szolubilis LDL receptor protein 1 (sLRP-1) anti-inflammatórikus hatásokkal rendelkezik és szerepet játszik az apoE-tartalmú lipoproteinek hepatikus felvételében. Ligandja, a kalretikulin (CALR) viszont pro-inflammatórikus molekula. A plazma aterogén indexe (AIP) szintén egy kiváló biomarker, mely a keringő aterogén és anti-aterogén lipoproteinek egymáshoz viszonyított arányát tükrözi. Vizsgálataink célja az volt, hogy elemezze a korábban nem vizsgált keringő biomarkerek, genetikai faktorok és AIP szerepét az OSA és a vele kapcsolatos lipid eltérések patomechanizmusában.

2. Célkitűzések

1. A HMW-HA és a HYAL-1 plazmaszintjének vizsgálata OSA-ban szenvedő betegeknél.
2. Az sLRP-1 és a CALR plazmaszintjének vizsgálata OSA-ban szenvedő betegeknél.
3. Az OSA és a szérum lipidszintek közötti kapcsolat öröklődésének vizsgálata.
4. Az AIP-értékek vizsgálata OSA-ban szenvedő betegeknél a betegség súlyosságával összefüggésben.

3. Módszerek

3.1. A vizsgálatokba bevont önkéntesek

A vizsgálatokban összesen 882 önkéntes vett részt.

Az OSA gyanújával (mint például hálótárs által megfigyelt horkolás, apnoe, nappali álmosság, elhízás vagy kardiometabolikus társbetegségek) beutalt résztvevőket a Semmelweis Egyetem Pulmonológiai Klinikáján és a Temesvári Orvosi és Gyógyszerészeti Egyetemen toboroztuk. Az OSA diagnózisát $AHI > 5/\text{óra}$ érték esetén állítottuk fel az alvás alatti légzészavarok legutóbbi klasszifikációja szerint. A résztvevőket nem diagnosztizálták korábban OSA-val és nem részesültek OSA terápiában. A monoizigóta és dizigóta ikerpárok a Magyar Ikerregiszterből kerültek bevonásra. Az akut fertőzésben, autoimmun betegségben vagy kontrollálatlan krónikus betegségben (például akut szívelégtelenségben, kontrollálatlan cukorbetegségben) szenvedő résztvevők kizárásra kerültek.

3.2. Vizsgálati protokollok

A hialuronsav metabolizmus és az OSA összefüggését 40 egészséges és 68 OSA-ban szenvedő önkéntesnél vizsgáltuk.

Az sLRP-1 és a CALR OSA-ban betöltött szerepének vizsgálatához 30 egészséges és 46 OSA-ban szenvedő önkéntes került bevonásra.

Az OSA és a lipidszintek közötti kapcsolat öröklődésének vizsgálatához 94 monoizigóta és 44 dizigóta iker résztvevőt vontunk be. Közülük 58 esetben diagnosztizáltunk OSA-t.

Az AIP szerepét OSA-ban 99 kontroll és 461 OSA-ban szenvedő önkéntesnél elemeztük. Az AIP az alábbi képlet szerint került kiszámításra: $\log(\text{TG (mmol/L)}/\text{HDL-C (mmol/L)})$.

A vizsgálatokban szereplő eljárások megfeleltek az 1964-es Helsinkai Nyilatkozat és későbbi módosításai etikai normáinak. A vizsgálatokat a helyi etikai bizottságok hagyták jóvá (Simmelweis Egyetem, TUKÉB 30/2014, RKEB 172/2018; Temesvári Orvosi és Gyógyszerészeti Egyetem 22/2014/24.07.2019). Az önkéntesek a vizsgálatokhoz írásos beleegyezésüket adták.

3.3. Alvásvizsgálatok

Az önkénteseknél egész éjszakás kardiorespiratórikus poligráfia (Somnoscreen RC készülék, Somnomedics GmbH, Németország) vagy poliszomnográfia (Somnoscreen Plus Tele PSG, Somnomedics GmbH, Németország) történt az Amerikai Alvásmedicina Akadémia (AASM) irányelvei szerint.

3.4. Biomarker mérések

Az alvásvizsgálatot követő reggelen az önkéntesektől éhgyomri vénás vért vettünk a biomarkerek szintjének (HYAL-1 és HMW-HA; sLRP-1 és CALR) és a lipidprofilnak a meghatározására. A keringő biomarker koncentrációk a kereskedelemben kapható ELISA-készletekkel kerültek meghatározásra.

3.5. Statisztikai analízis

A vizsgálataink során kereskedelmi forgalomban kapható statisztikai programokat használtunk (JASP 0.11.1, Graph Pad Prism 5.0, MedCalc 19.5.3, SOLAR Eclipse version 8.1.1). A normalitás vizsgálatát Shapiro-Wilk- vagy Kolmogorov-Smirnov teszttel végeztük. Non-parametrikus ANCOVA-t alkalmaztunk életkorra, nemre, BMI-re, dohányzásra és a lipidprofilra való adjusztálás után, hogy értékeljük a biomarker szintek közötti különbségeket az OSA- és a kontrollcsoportok, valamint a súlyossági csoportok között. Non-parametrikus ANCOVA-t alkalmaztunk a lipidek és az OSA súlyossága közötti kapcsolat értékelése esetén is. Spearman-tesztet

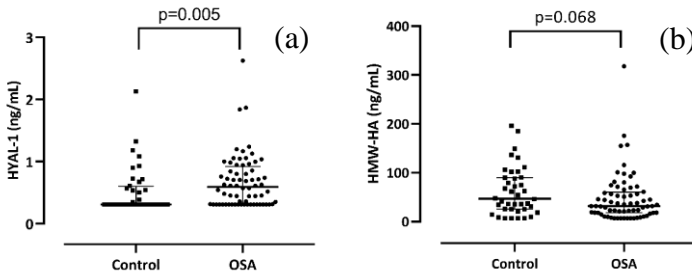
használtunk a biomarkerek klinikai változókkal és az alvás szerkezettel való összehasonlítására. Multivariáns logisztikus regressziót végeztünk a biomarker szintek és a klinikai változók, valamint a lipidszintek és az AIP, valamint az OSA közötti lehetséges kapcsolat vizsgálatára. Az AIP prediktív értékét az OSA, a szív- és érrendszeri betegségek, a magas vérnyomás és a cukorbetegség tekintetében ROC-elemzéssel (receiver operating characteristic) értékeltük és a lipidszinteket DeLong-tesztel hasonlítottuk össze. A változók öröklődésének becslésére bivariáns korrelációt (Pearson-teszt) alkalmaztunk az ikerpároknál. A vizsgált fenotípusok közötti kovariáció nagyságának meghatározásához kétváltozós Cholesky-dekompozíciót alkalmaztunk. A $p < 0.05$ értéket tekintettük szignifikánsnak.

4. Eredmények

4.1. A HMW-HA és a HYAL-1 szerepe az OSA patomechanizmusában

A plazma HYAL-1 koncentrációk szignifikánsabban magasabbak (0.59 /0.31–0.88/ng/mL vs. 0.31 /0.31–0.58/ng/mL; $p=0.005$, *Ábra 1a*), míg a HMW-HA szintek alacsonyabbak (31.63 /18.11–59.25/ng/ mL vs. 46.83 /25.41–89.95/ng/mL; $p=0.068$, *Ábra 1b*) voltak az OSA csoportban a kontroll csoporthoz képest kortól, nemtől, BMI-től és dohányzástól függetlenül. A plazma HMW-HA koncentrációk szignifikánsan és negatívan korreláltak az AHI értékekkel ($\rho=-0.195$, $p=0.043$). Továbbá szignifikáns korrelációt találtunk a HYAL-1 szintek és az AHI ($\rho=0.30$, $p<0.01$) és az oxigén deszaturációs index (ODI; $\rho=0.26$, $p<0.01$) értékei között. A súlyossági csoportokat tekintve, szignifikáns különbséget találtunk a HYAL-1 szintek között ($p=0.03$), míg a HMW-HA szintek nem különböztek ($p=0.12$).

HYAL-1 koncentrációk összefüggést mutattak a glükóz ($\rho=0.32$; $p=0.002$), CRP ($\rho=0.30$; $p=0.005$) és TG szintekkel ($\rho=0.24$; $p=0.014$), valamint negatívan összefüggtek a HDL-C koncentrációkkal ($\rho=-0.21$; $p=0.036$).

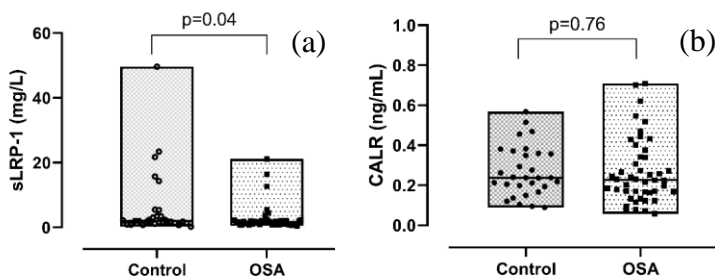


Ábra 1. Keringő HYAL-1 (a) és HMW-HA (b) szintek az OSA-ban szenvedő és az egészséges csoportokban

4.2. Az sLRP-1 és a CALR szerepe az OSA patomechanizmusában

Szignifikánsan alacsonyabb sLRP-1 koncentrációt (1.67 /0.90-2.11/ mg/L vs. 1.99 /1.53-3.51/ mg/L; $p=0.04$; *Ábra 2a*) találtunk az OSA csoportban a kontroll csoporthoz képest a korra, nemre, BMI-re, illetve lipid profilra való adjusztálás után. A CALR szintek nem különböztek a két csoport között (0.23 /0.17-0.34/ ng/mL vs. 0.24 /0.20-0.36/ ng/mL $p=0.76$; *Ábra 2b*). Nem találtunk különbséget a súlyossági csoportok között sem az sLRP-1 ($p=0.15$), sem a CALR ($p=0.44$) koncentrációkat tekintve.

A plazma sLRP-1 szintek szignifikánsan és fordítottan korreláltak az AHI ($\rho=-0.29$, $p=0.01$) és az ODI értékekkel ($\rho=-0.23$, $p=0.04$). Szignifikáns fordított összefüggés igazolódott az sLRP-1 koncentrációk és a BMI ($\rho=-0.35$, $p<0.01$), LDL-C ($\rho=-0.23$, $p=0.04$), TG ($\rho=-0.27$, $p=0.02$) és AIP ($\rho=-0.27$, $p=0.02$) értékek között. CALR koncentrációk nem függtek össze egyik alvásparaméterrel sem (mindegyik $p>0.05$).



Ábra 2. Keringő sLRP-1 (a) és CALR (b) szintek az OSA-ban szenvedő és az egészséges csoportokban

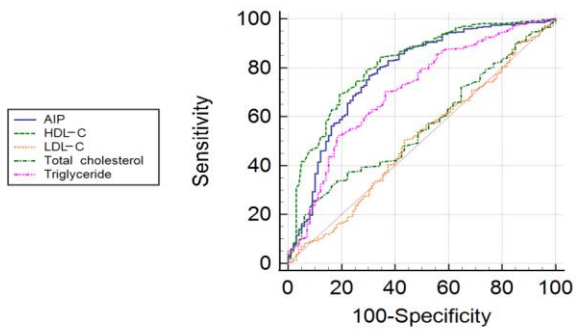
4.3. Örökletes tényezők az dyslipidaemia patomechanizmusában OSA-ban

Szignifikáns összefüggést találtunk az AHI, az ODI és a teljes alvásidőben 90%-nál alacsonyabb oxigénszaturációval eltöltött idő (TST90%), valamint a vérnyomás, szérumszén TG-, lipoprotein(a)- és glükózsintek között (mindegyik $p < 0.05$). A bivariáns elemzés közös genetikai hátteret igazolt a szérumszén TG és az ODI ($r=0,63$, $p=0,03$), valamint a TST90% ($r=0,58$, $p=0,03$) értékek között, függetlenül a kortól, a nemtől és a BMI-től, az antidiabetikumokat és lipidcsökkentő gyógyszereket szedő résztvevők kizárása után. A többi korrelációt genetikai vagy környezeti hatás szignifikánsan nem befolyásolta.

4.4. Plazma aterogén indexe OSA-ban

Magasabb AIP, alacsonyabb HDL-C és TC koncentrációt detektáltunk az OSA csoportban a kontrollcsoporthoz képest a kortól, nemtől és BMI-től függetlenül (mindegyik $p < 0.05$). Az AIP értékek pozitívan összefüggtek az Epworth Álmosági Skála ($r=0.19$), AHI ($r=0.40$), ODI ($r=0.43$), TST90% ($r=0.36$) értékekkel és negatívan a minimális oxigénszaturációval ($r=-0.28$, mindegyik $p < 0.05$). Az AIP nem bizonyult jobb prediktornak a HDL-C-nél a kardiovaszkuláris betegségek és a cukorbetegség tekintetében.

A ROC-analízis szerint a HDL-C, a TG és az AIP szignifikáns prediktoroknak bizonyultak (mindegyik $p < 0,05$). A görbe alatti terület HDL-C esetén nagyobb volt az AIP ($p=0,03$) és a TG ($p < 0,01$) értékeihez képest. Az AIP-hoz tartozó görbe alatti terület szignifikánsan magasabb volt, mint a TG-hez tartozó ($p < 0,01$; *Ábra 3*).



Ábra 3. A ROC analízis görbéi a különböző lipid frakciók esetén OSA-ban.

5. Következtetések

5.1. A HMW-HA és a HYAL-1 szerepe az OSA patomechanizmusában

- A plazma HYAL-1 szintek magasabbak, míg a plazma HMW-HA szintek alacsonyabbak voltak OSA csoportban az egészséges csoporthoz képest.
- A HYAL-1 koncentrációk összefüggtek a betegség súlyosságával és az éjszakai hypoxia markereivel.
- Fordított kapcsolat igazolódott a HMW-HA szintek és a betegség súlyossága között.

5.2. Az sLRP-1 és a CALR szerepe az OSA patomechanizmusában

- Alacsonyabb plazma sLRP-1 koncentrációt detektáltunk az OSA csoportban az egészséges csoporthoz képest.
- Az sLRP-1 szintek fordított kapcsolatot mutattak a lipidprofillal és az éjszakai hypoxia markereivel.
- A plazma CALR koncentrációk nem különböztek a két csoportban.

5.3. Örökletes tényezők az dyslipidaemia patomechanizmusában OSA-ban

- Az OSA és TG szintek kapcsolata örökletesnek bizonyult közös genetikai hátteret feltételezve.

5.4. Plazma aterogén indexe OSA-ban

- Az AIP értékek magasabbak voltak OSA csoportban az egészséges csoporthoz képest és összefüggtek a betegség súlyosságával.
- Az AIP nem bírt magasabb prediktív értékkel az OSA-asszociált dyslipidaemia értékelésében a többi lipid paraméterhez képest.

6. Saját közlemények

6.1. A disszertációhoz kapcsolódó közlemények

1. Meszaros M, A. Kis, L. Kunos, A.D. Tarnoki, D.L. Tarnoki, Z. Lazar, and A. Bikov. (2020) *The role of hyaluronic acid and hyaluronidase-1 in obstructive sleep apnoea*. Sci Rep, **10**: 19484.

Impakt faktor: 4.380

Kvartilis: D1

2. Meszaros M, L. Kunos, A.D. Tarnoki, D.L. Tarnoki, Z. Lazar, and A. Bikov. (2021) *The role of soluble low-density lipoprotein receptor-related protein-1 in obstructive sleep apnoea*. J Clin Med, **10**: 1494.

Impakt faktor: 4.964

Kvartilis: Q1

3. Meszaros M*, A.D. Tarnoki*, D.L. Tarnoki*, D.T. Kovacs, B. Forgo, J. Lee, J. Sung, J. Vestbo, V. Müller, L. Kunos, and A. Bikov. (2020) *Obstructive sleep apnea and hypertriglyceridaemia share common genetic background: Results of a twin study*. J Sleep Res, **29**: e12979.

* Shared first authorship.

Impakt faktor: 3.981

Kvartilis: Q1

4. Bikov, A., M. Meszaros, L. Kunos, A.G. Negru, S.M. Frent, and S. Mihaicuta. (2021) *Atherogenic index of plasma in obstructive sleep apnoea*. J Clin Med, **10**: 417.

Impakt faktor: 4.964

Kvartilis: Q1

Σ Impakt faktor: 18.289

6.2. Egyéb közlemények

1. Meszaros, M., P. Horvath, A. Kis, L. Kunos, A.D. Tarnoki, D.L. Tarnoki, Z. Lazar, and A. Bikov. (2021) *Circulating levels of clusterin and complement factor H in patients with obstructive sleep apnea*. Biomark Med, **15**: 323-330.
2. Meszaros, M., T.D. Latshang, S.S. Aeschbacher, F. Huber, D. Flueck, M. Lichtblau, S. Ulrich, E.D. Hasler, P.M. Scheiwiller, L. Reinhard, S. Ulrich, K.E. Bloch, M. Furian, and E.I. Schwarz. (2021) *Effect of nocturnal oxygen on blood pressure response to altitude exposure in COPD - Data from a randomized placebo-controlled cross-over trial*. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, **16**: 3503-3512.
3. Meszaros, M., A.G. Mathioudakis, M. Xanthoudaki, V. Sircu, E. Nena, J. Vestbo, A. Corlateanu, P. Steiropoulos, and A. Bikov. (2021) *The association between beta-blocker therapy and daytime sleepiness in obstructive sleep apnoea*. Sleep Biol Rhythms, **19**: 399-408.
4. Tarnoki, A.D., D.L. Tarnoki, C. Oláh, M. Szily, D.T. Kovacs, A. Dienes, M. Piroska, B. Forgo, M. Pinheiro, P. Ferreira, L. Kostyál, M. Meszaros, J. Pako, L. Kunos, and A. Bikov. (2021) *Lumbar spine abnormalities in patients with obstructive sleep apnoea*. Sci Rep, 11: 16233.
5. Bikov, A., S.M. Frent, M. Meszaros, L. Kunos, A.G. Mathioudakis, A.G. Negru, L. Gaita, and S. Mihaicuta. (2021) *Triglyceride-glucose index in non-diabetic, non-obese patients with obstructive sleep apnoea*. J Clin Med, **10**: 1932.

6. Bikov, A., M. Meszaros, and E.I. Schwarz. (2021) *Coagulation and fibrinolysis in obstructive sleep apnoea*. Int J Mol Sci, **22**: 2834.
7. Bikov, A., M. Mészáros, and L. Kunos. (2020) [*Characteristics of Hungarian patients with obstructive sleep apnoea*]. Orvosi Hetilap, **161**: 2117-2123.
8. Bocskei, R.M., M. Meszaros, A.D. Tarnoki, D.L. Tarnoki, L. Kunos, Z. Lazar, and A. Bikov. (2020) *Circulating soluble urokinase-type plasminogen activator receptor in obstructive sleep apnoea*. Medicina, **56**.
9. Csoma, B., E. Bárczi, M. Mészáros, L. Büdi, P. Horváth, T. Erdélyi, K. Vincze, Z. Süttő, A. Biró, B. Bombai, M. Vámos, D. Fekete, and V. Müller. (2020) *Tapasztalatok a járvány kezdetén észlelt első COVID-19 betegek ellátásával kapcsolatban a Semmelweis Egyetem Pulmonológiai Klinikán*. Med Thor, **73**: 192-195.
10. Bárczi, E., M. Mészáros, L. Büdi, B. Csoma, K. Kristóf, and V. Müller. (2020) *Tapasztalatok a COVID-19 dolgozói szűrésről a Semmelweis Egyetem Pulmonológiai Klinikáján*. Med Thor, **73**: 196-199.
11. Horváth, P., Z. Lázár, G. Gálffy, R. Puskás, L. Kunos, G. Losonczy, M. Mészáros, Á.D. Tárnoki, D.L. Tárnoki, and A. Bikov. (2020) *Circulating P-selectin glycoprotein ligand 1 and P-selectin levels in obstructive sleep apnea patients*. Lung, **198**: 173-179.
12. Bikov A, Frent S Bikov, A., S. Frent, R. Pleava, L. Kunos, S. Bokhari, M. Meszaros, and S. Mihaicuta. (2020) *The burden of associated comorbidities in patients with obstructive sleep apnea-regional differences in two Central-Eastern European sleep centers*. J Clin Med, **9**: 3583.

13. Lázár, Z., M. Mészáros, and A. Bikov. (2020) *The nitric oxide pathway in pulmonary arterial hypertension: Pathomechanism, biomarkers and drug targets*. *Curr Med Chem*, **27**: 7168-7188.
14. Pako, J., L. Kunos, M. Meszaros, D.L. Tarnoki, A.D. Tarnoki, I. Horvath, and A. Bikov. (2019) *Decreased levels of anti-aging klotho in obstructive sleep apnea*. *Rejuvenation Res*, **23**: 256-261.
15. Scarlata, S., P. Finamore, M. Meszaros, S. Dragonieri, and A. Bikov. (2020) *The role of electronic noses in phenotyping patients with chronic obstructive pulmonary disease*. *Biosensors*, **10**: 171.
16. Mészáros, M. and A. Bikov. (2020) *A dyslipidaemia szerepe az obstruktív alvási apnoe patomechanizmusában*. *Lege Artis Med*, **30**: 139-143.
17. Mészáros, M., A. Kis, and G. Horváth. (2020) *Alvási diagnosztika*. *Orvosképzés*, **XCV**: 642-648.
18. Bikov, A., Z. Lazar, P. Horvath, D.L. Tarnoki, A.D. Tarnoki, L. Fesus, M. Horvath, M. Meszaros, G. Losonczy, and L. Kunos. (2019) *Association between serum lipid profile and obstructive respiratory events during REM and non-REM sleep*. *Lung*, **197**: 443-450.
19. Bikov, A., M. Meszaros, and Z. Lazar. (2019) *Exhaled nitric oxide in COPD*. *Cur Respir Med Rev*, **15**: 71-78.
20. Kis, A., M. Meszaros, D.L. Tarnoki, A.D. Tarnoki, Z. Lazar, P. Horvath, L. Kunos, and A. Bikov. (2019) *Exhaled carbon monoxide levels in obstructive sleep apnoea*. *J Breath Res*, **13**: 036012-036012.
21. Szily, M., A.D. Tarnoki, D.L. Tarnoki, D.T. Kovacs, B. Forgo, J. Lee, E. Kim, J. Sung, L. Kunos, M. Meszaros, V. Muller, and A. Bikov. (2019) *Genetic influences on the onset of obstructive sleep apnoea*

- and daytime sleepiness: A twin study. Respir Res, 20:*
125.
22. Barczy, E., M. Meszaros, A. Bohacs, L. Geczi, I. Vereczkey, and V. Müller. (2019) *Testicular cancer in a lung transplant patient with cystic fibrosis: A case report. Transplant Proc, 51:* 1293-1295.
23. Mészáros, M., A. Kis, L. Kunos, Z. Lázár, P. Horváth, G. Losonczy, and A. Bikov. (2018) *A krónikus intermittáló hipoxia hatása a légúti gyulladásra obstruktív alvási apnoében. Med Thor, 71:* 367-376.

Köszönetnyilvánítás

Köszönetet szeretnék mondani témavezetőmnek, Bikov Andrásnak, aki mindig motivált, hogy részt vegyek a kutatási projektjeiben. Az ő szakmai és tudományos vezetése elengedhetetlen volt a munkám során.

Köszönöm kollégáimnak, Lázár Zsófiának, Tárnoki Ádám Domonkosnak és Tárnoki Dávid Lászlónak, hogy tanulmányaim során értékes tudományos tanácsokkal láttak el.

Szeretnék köszönetet mondani Müller Veronika professzor asszonynak, a Semmelweis Egyetem Pulmonológiai Klinika igazgató asszonyának, amiért az vizsgálatokhoz szükséges eszközöket és a környezetet biztosította.

Dolgozatom a Magyar Pulmonológiai Alapítványhoz kapcsolódó támogatás (2019 “A CPAP terápia hatásának vizsgálata az inzulinrezisztenciára obstruktív alvási apnoében” 1.5 millió Ft) keretén belül készült el.