

Maruša Jerše¹, Eva Kočar², Cene Skubic³, Miha Moškon⁴, Julija Šmon⁵,
Leja Dolenc Grošelj⁶, Damjana Rozman⁷

Primerjava biokemijskih in kliničnih označevalcev za opredelitev motenj cirkadianega ritma pri bolnikih z obstruktivno apnejo v spanju

*Comparison of Biochemical and Clinical Markers to Identify Circadian
Rhythm Disturbances in Patients with Obstructive Sleep Apnoea*

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: obstruktivna spalna apneja, motnje cirkadianega ritma, izražanje genov, cirkadiani biomarkerji, poligrafija, Cosinor analiza, ritmi kortizola in melatonina

IZHODIŠČA. Obstruktivna spalna apneja (OSA) je pogosta bolezen, ki zaradi motnje dihanja v spanju in porušene arhitekture spanja pomembno vpliva na kvaliteto življenja bolnikov. Incidenca OSA narašča, zato bi enostavnejše metode za ocenjevanje stopnje ogroženosti pomenile velik doprinos pri obravnavi teh bolnikov. METODE. Izvedli smo retrospektivno bazično raziskavo, v kateri smo na že zbranih vzorcih krvi preverili izražanje cirkadianih biooznačevalcev. Vzorci periferne venske krvi so bili predhodno odvzeti v štirih časovnih točkah (ob 13:00, 19:00, 01:00 in 07:00 uri) 25 osebam, ki so bile hospitalizirane en dan. Hkrati je bila med 22:00 in 06:00 opravljena poligrafija. V naši raziskavi smo iz levkocitno-trombocitne plasti izolirali RNA in preko kvantitativne verižne reakcije z reverzno transkriptazo s polimerazo (angl. *reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction*, RT-qPCR) izmerili izražanje osrednjih cirkadianih genov (*PER1* (angl. *period circadian regulator 1*), *PER2* (angl. *period circadian regulator 2*), *PER3* (angl. *period circadian regulator 3*), *CRY1* (angl. *cryptochrome circadian regulator 1*), *CRY2* (angl. *cryptochrome circadian regulator 2*), *BMAL1* (angl. *basic helix-loop-helix aryl hydrocarbon receptor nuclear*

¹ Maruša Jerše, dr. med., Center za funkcionalno genomiko in biočipe, Inštitut za biokemijo in molekularno genetiko, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana; marusa.jerse@gmail.com

² Eva Kočar, mag. mol. funkc. biol., Center za funkcionalno genomiko in biočipe, Inštitut za biokemijo in molekularno genetiko, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

³ Dr. Cene Skubic, mag. mol. funkc. biol., Center za funkcionalno genomiko in biočipe, Inštitut za biokemijo in molekularno genetiko, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

⁴ Prof. dr. Miha Moškon, dipl. inž. rač. in inf., Fakulteta za računalništvo in informatiko, Univerza v Ljubljani, Večna pot 113, 1000 Ljubljana

⁵ Julija Šmon, dr. med., Center za funkcionalno genomiko in biočipe, Inštitut za biokemijo in molekularno genetiko, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana; Inštitut za klinično nevrofiziologijo, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana

⁶ Prof. dr. Leja Dolenc Grošelj, dr. med., Inštitut za klinično nevrofiziologijo, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana; Katedra za nevrologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana

⁷ Prof. dr. Damjana Rozman, univ. dipl. kem., Center za funkcionalno genomiko in biočipe, Inštitut za biokemijo in molekularno genetiko, Medicinska fakulteta, Vrazov trg 2, Univerza v Ljubljani, 1000 Ljubljana

translocator like 1), *CLOCK* (angl. *clock circadian regulator*)). Obenem smo iz alikvota plazme istih preiskovancev izolirali cirkadiana hormona melatonin in kortizol ter pomerili njuno koncentracijo. Pri izmerjenih podatkih smo preverili normalnost porazdelitve in za vsako meritev uporabili primerni statistični test. Ritmičnost je bila preverjena s Cosinor analizo, za statistično značilno smo upoštevali p -vrednost manjšo od 0,05. **REZULTATI.** Na podlagi poligrafije je bilo 20 oseb uvrščenih v skupino OSA, 10 oseb je imelo blago, 3 zmerno in 7 hudo OSA, 5 oseb pa je bilo uvrščenih v kontrolno skupino. Povprečna koncentracija iz levkocitno-trombocitne plasti izolirane RNA je bila 1320,6 ng/ μ L. Prve ugotovitve izražanja cirkadianih genov so pri bolnikih z OSA v primerjavi s kontrolami pokazale znižano izražanje gena *CRY2* ob 19:00 ($p = 0,015$) in zvišano izražanje gena *BMAL1* ob 01:00 ($p = 0,049$). Po nadzoru stopnje napačnega odkritja ugotovitve za *BMAL1* niso ohranile svoje statistične pomembnosti ($q = 0,196$), medtem ko je bila pri *CRY2* statistična vrednost mejna ($q = 0,061$). Grafi Cosinor analize so nakazali zamik v fazi izražanja genov *PER1* in *CRY2*. Cosinor analiza je v skupini bolnikov z OSA potrdila ritmičnost izražanja melatonina ($p < 0,001$) in kortizola ($p < 0,001$). Pri treh preiskovancih smo namesto fiziološkega večernega vrha opazili vrh melatonina ob 07:00 zjutraj. Zvišane večerne ravni kortizola so bile ugotovljene pri 45 % bolnikov in 20 % kontrolnih oseb. **ZAKLJUČKI.** Naša raziskava je potrdila primernost levkocitno-trombocitne plasti za izolacijo RNA. Hkrati je nakazala od stopnje OSA odvisne spremembe izražanja cirkadianih genov in spremembe v ritmičnosti izražanja cirkadianih hormonov pri bolnikih z OSA.