



Brazilian Journal of OTORHINOLARYNGOLOGY

www.bjorl.org



ARTIGO ORIGINAL

Nível sérico da proteína de alta mobilidade do grupo *Box-1* está associado à SaO₂ mais baixa em pacientes com apneia do sono: um estudo preliminar[☆]

Hyun Jin Min^{a,b}, Joon Soon Park^a, Kyung Soo Kim^a, Miran Kang^c, Ju Hee Seo^c, Joo-Heon Yoon^{c,d}, Chang-Hoon Kim^{c,d} e Hyung-Ju Cho^{id c,d,*}

^a Chung-Ang University College of Medicine, Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Seoul, República da Coreia

^b Chung-Ang University Hospital, Biomedical Research Institute, Seoul, República da Coreia

^c Yonsei University College of Medicine, Department of Otorhinolaryngology, Seoul, República da Coreia

^d Yonsei University College of Medicine, The Airway Mucus Institute, Seoul, República da Coreia

Recebido em 2 de julho de 2020; aceito em 30 de novembro de 2020

PALAVRAS-CHAVE

Proteína HMGB1;
Hipóxia;
Apneia obstrutiva do sono;
Saturação de oxigênio (SaO₂)

Resumo

Introdução: O nível sérico da proteína de alta mobilidade do grupo *Box-1* está relacionado com a gravidade da apneia obstrutiva do sono.

Objetivo: Avaliar o uso do nível sérico da proteína de alta mobilidade do grupo *Box-1* como um marcador biológico em pacientes com apneia obstrutiva do sono.

Método: Geramos um modelo murino de hipóxia intermitente crônica que imita a apneia obstrutiva do sono em humanos. Pacientes com apneia obstrutiva do sono que fizeram polissonografia foram incluídos prospectivamente. Amostras de soro foram obtidas de camundongos e pacientes com apneia obstrutiva do sono e o nível sérico da proteína de alta mobilidade do grupo *Box-1* foi medido por *enzyme-linked immunosorbent assay*.

Resultados: O nível sérico da proteína de alta mobilidade do grupo *Box-1* foi $56,16 \pm 30,33$ ng/mL em hipóxia intermitente crônica e $18,63 \pm 6,20$ ng/mL em camundongos controle ($p < 0,05$). Os valores médios do índice de apneia-hipopneia e do índice de distúrbio respiratório nos pacientes com apneia obstrutiva do sono foram $50,35 \pm 27,96$ e $51,56 \pm 28,53$, respectivamente, e o nível médio da proteína de alta mobilidade do grupo *Box-1* foi $30,13 \pm 19,97$ ng/mL. O índice de apneia-hipopneia e o índice de distúrbio respiratório não foram significativamente associados com o nível da proteína de alta mobilidade do grupo *Box-1* ($p > 0,05$). Em vez disso, esse nível de proteína foi significativamente associado com o valor mais baixo da concentração arterial de oxigênio (SaO₂) ($p < 0,05$).

DOI se refere ao artigo: <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2020.11.019>

[☆] Como citar este artigo: Min HJ, Park JS, Kim KS, Kang M, Seo JH, Yoon J-H, et al. Serum high-mobility group box 1 protein level correlates with the lowest SaO₂ in patients with sleep apnea: a preliminary study. Braz J Otorhinolaryngol. 2022;88:875–81.

* Autor para correspondência.

E-mail: hyungjucho@yuhs.ac (H. Cho).

A revisão por pares é da responsabilidade da Associação Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial.

Conclusão: A proteína de alta mobilidade do grupo *Box-1* pode estar envolvida na patogênese da apneia obstrutiva do sono e a possibilidade de que essa proteína possa ser um marcador biológico útil na apneia obstrutiva do sono deve ser avaliada mais detalhadamente.

© 2020 Associação Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Introdução

A apneia obstrutiva do sono (AOS), caracterizada por episódios recorrentes de interrupção ou redução da respiração durante o sono, é o distúrbio respiratório relacionado ao sono mais comum.¹ A AOS induz à falta da quantidade de oxigênio necessária durante o sono e resulta em aumento do estresse oxidativo. Portanto, o estresse oxidativo foi sugerido como um dos patomecanismos subjacentes que explicam a relação entre a AOS e as complicações relacionadas à AOS, como hipertensão, disfunção endotelial e cardiopatia isquêmica.² Por exemplo, a hipóxia intermitente induzida por AOS causou influxo de radicais livres e espécies reativas de oxigênio (ROS) e o nível aumentado de ROS induziu danos diretos ao miocárdio. O aumento de ROS durante o sono também é responsável pela up-regulação das moléculas de adesão que podem danificar o endotélio.³ Foi ainda demonstrado que o tratamento da AOS diminuiu o estresse oxidativo, conforme comprovado pela diminuição do nível de marcadores de estresse oxidativo no plasma.⁴ Embora os mecanismos moleculares que levam ao estresse oxidativo na AOS não tenham sido adequadamente elucidados, a hipóxia e o aumento dos níveis de ROS são provavelmente responsáveis pelo dano oxidativo em pacientes com AOS.²

A proteína de alta mobilidade do grupo *Box-1* (HMGB1) é uma proteína ubíqua, abundante e evolutivamente conservada em eucariotos, que medeia a ligação e funções do DNA como uma molécula chaperona de DNA não histônica no núcleo. A HMGB1 foi redescoberta como um produto tardio de macrófagos estimulados por endotoxinas que podem ser secretados na área extracelular de forma passiva ou ativa através do citoplasma.⁵ Na área extracelular, a HMGB1 se liga a receptores, como o *Toll-Like Receptor 2* (TLR2) e TLR4, e transfere sinais inflamatórios. Portanto, os mecanismos de translocação da HMGB1 são considerados importantes para o controle da atividade imunológica. Recentemente, descobriu-se que o estresse oxidativo é um fator crítico na determinação da função de citocina da HMGB1.^{6,7} ROS induzidas por hipóxia são relatadas como importantes para a translocação da HMGB1 para a área extracelular.⁸ Além disso, o estado redox da HMGB1 determina sua função na qual as proteínas HMGB1 reduzidas e oxidadas têm funções opostas.⁷ Esse achado de estresse oxidativo induzido por eventos hipóxicos ser um mecanismo importante tanto na patogênese da AOS quanto na função da HMGB1 nos levou a vincular a HMGB1 com a AOS.

Um relato anterior demonstrou que o nível sérico de HMGB1 era maior em pacientes com AOS do que em controles e o nível sérico de HMGB1 estava correlacionado com o índice de distúrbio respiratório (IDR). Após o tratamento com pressão positiva contínua nas vias aéreas (CPAP), o nível de HMGB1 voltou ao normal.⁹ No entanto, não houve outro estudo que avaliasse o nível sérico de HMGB1 em pacientes com AOS.

Nossa hipótese é que a HMGB1 pode ser usada como um parâmetro relevante na avaliação da AOS porque o estresse oxidativo está fortemente associado a ela.^{10,11} Neste estudo, nosso objetivo foi avaliar a relação entre os níveis de HMGB1 e os achados polissonográficos (PSG) e apoiar ainda mais nossa hipótese com um modelo murino de hipóxia intermitente crônica (HIC).

Método

Modelo murino de HIC

O modelo murino de HIC foi criado de acordo com o protocolo descrito anteriormente ([fig. 1 suplementar](#)).¹² O HIC é desenvolvido como um modelo animal de AOS para investigar a patogênese essencial das complicações relacionadas à AOS, porque a exposição crônica à hipóxia-reoxigenação é um distúrbio importante que demonstrou aumentar significativa e independentemente tanto a morbidade quanto a mortalidade de pacientes com AOS.¹³ Camundongos C57BL/6J machos adultos (8 semanas de idade) foram divididos aleatoriamente em dois grupos, com seis camundongos em cada um, que foram colocados em câmaras idênticas. O grupo HIC foi exposto a 4 semanas de HIC (12 horas de luz do dia por dia), enquanto o grupo controle foi mantido em condições normais de oxigenação. Os camundongos foram transferidos para uma câmara de HIC personalizada que foi conectada a um sistema de entrega de gás controle (Live Cell Instrument, Seul, Coreia do Sul) durante o HIC. Cada ciclo de 120 s incluiu um estágio em que o O₂ na câmara foi mantido em um ponto mais baixo de concentração de 5%, seguido pela restauração para 21%.

Os camundongos foram eutanasiados no dia seguinte à exposição final à hipóxia e amostras de sangue foram coletadas por punção cardíaca. A eutanásia dos camundongos antes da detecção dos níveis séricos de HMGB1 foi feita em estudos anteriores, não afetou significativamente os resultados do experimento.⁸ O soro foi centrifugado ime-

diatamente e as amostras de soro foram obtidas e mantidas a -70°C até o seu uso nos procedimentos experimentais. Os níveis de HMGB1 foram avaliados com as amostras de soro obtidas.

Pacientes

O protocolo para coleta de dados humanos foi aprovado pelo conselho de ética institucional do *Yonsei University College of Medicine* (4-2018-0304, 4-2014-0246). O consentimento informado foi obtido de todos os participantes. Pacientes entre 19 e 70 anos que procuraram o serviço de otorrinolaringologia do *Severance Hospital* foram incluídos neste estudo.

Todos os participantes foram avaliados por PSG. Todas os registros receberam escores com base em épocas de 30 segundos de acordo com os critérios da *American Academy of Sleep Medicine* (AASM).¹⁴ Os estágios do sono receberam escores que usaram os critérios-padrão. A apneia foi definida como a interrupção do fluxo de ar por 10 s e a hipopneia foi definida como uma redução de 30% do fluxo de ar ou dos movimentos respiratórios acompanhada por uma diminuição de 3% na saturação de oxigênio no sangue arterial e/ou seguida por um despertar. O índice de apneia-hipopneia (IAH) foi calculado para todos os pacientes e somente aqueles com $\text{IAH} > 5$ foram incluídos. Pacientes com IAH de 5 a 15 foram colocados no grupo de AOS leve, aqueles com IAH de 16 a 30 no grupo de AOS moderada e aqueles com $\text{IAH} > 30$ no grupo de AOS grave, de acordo com um estudo anterior.¹⁵

As amostras de sangue foram coletadas em tubos com EDTA e tubos sem anticoagulante e imediatamente centrifugadas a 2500 g por 5 min. As amostras de soro separadas foram coletadas e armazenadas a -80°C até serem usadas na feitura de Elisa.

Medida do nível sérico de HMGB1

Os níveis séricos de HMGB1 foram medidos por *enzyme-linked immunosorbent assay* (Elisa) com o kit HMGB1 Elisa (Shino-Test Corp., Tóquio, Japão) de acordo com o protocolo do fabricante. O teste Elisa foi feito de acordo com o procedimento de “faixa normal”, com sensibilidade de 0 a 80 ng/mL.

Análise estatística

As análises estatísticas foram feitas com o *software* SPSS 23.0 (IBM Corp., Armonk, NY, EUA). Os dados foram apresentados como média $\pm$ desvio-padrão. O teste de Spearman foi usado para análise de correlação entre variáveis contínuas. As análises de regressão univariada e multivariada foram feitas para determinar os fatores que se associaram significativamente com o nível de HMGB1; valores de p iguais a ou menores do que 0,05 foram considerados estatisticamente significantes.

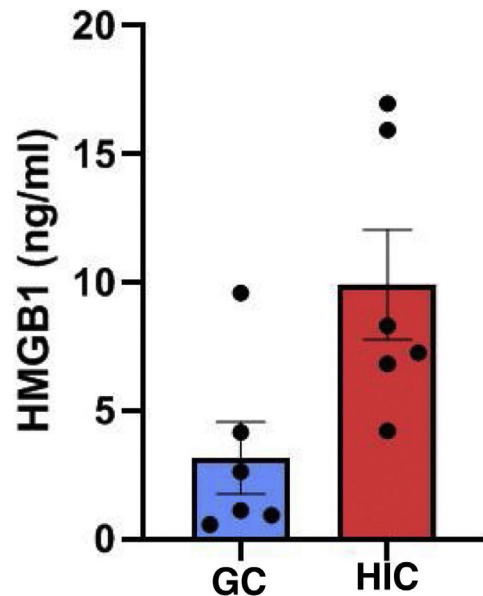


Figura 1 Nível sérico de HMGB1 aumentado no modelo de camundongos HIC em relação à “faixa de normalidade” do grupo controle (GC).

Tabela 1 Características clínicas dos indivíduos estudados

Parâmetro	Valor
n	34
Sexo, masculino/feminino	32/2
Idade, anos	41,85 $\pm$ 15,30
Índice de massa corporal, kg/m ²	26,73 $\pm$ 3,48
Presença de hipertensão	23,52% (8/34)
Presença de diabetes	11,76% (4/34)
História de tabagismo	
Fumante atual	23,52% (8/34)
Ex-fumante	26,47% (9/34)
Não-fumante	50,0% (17/34)
HMGB1 (ng/mL)	30,13 $\pm$ 19,97

Resultados

Modelo murino de HIC

Geramos um modelo murino de HIC e um grupo de controle ($n = 6$, em cada). Amostras de soro foram obtidas de ambos os grupos e comparadas. O nível sérico de HMGB1 foi significativamente maior no grupo HIC ($9,91 \pm 5,25$ ng/mL) do que no grupo controle ($3,16 \pm 3,42$ ng/mL) (fig. 1).

Sujeitos humanos

Na etapa seguinte, recrutamos prospectivamente pacientes humanos com AOS, nos quais a PSG foi feita. Foram incluídos no estudo 34 pacientes (32 homens e 2 mulheres) com AOS. A média de idade foi de $41,85 \pm 15,30$ anos. Oito pacientes (23,52%, /34) foram diagnosticados com hipertensão e quatro foram diagnosticados com diabetes (11,76%, 4/34). O nível sérico médio de HMGB1 foi de $30,13 \pm 19,97$ ng/mL (tabela 1). O IAH médio foi de $50,35 \pm 27,96$ e o IDR médio

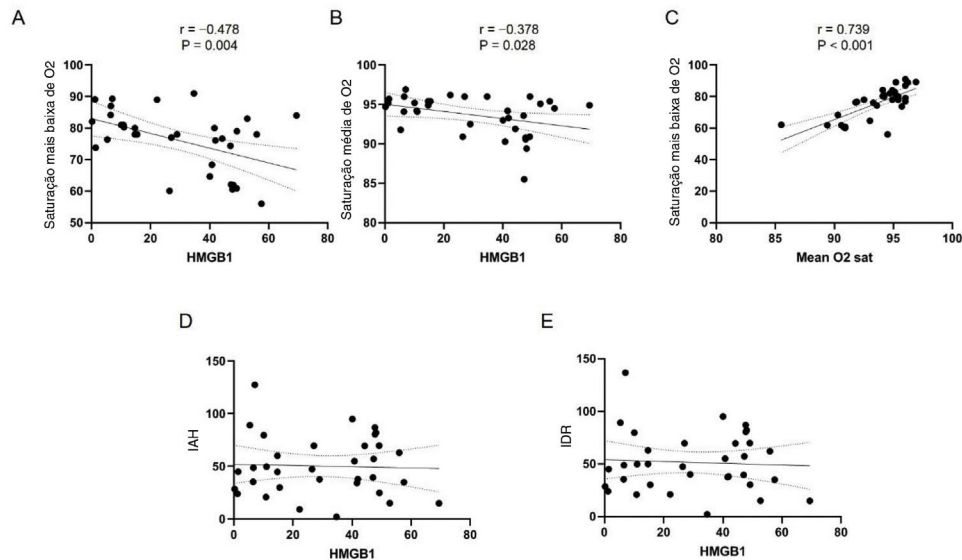


Figura 2 Associação entre os níveis de HMGB1 e SaO₂, IAH e IDI. (A) O valor mais baixo e (B) o valor médio da SaO₂ foram associados negativamente ao nível sérico de HMGB1. (C) O valor mais baixo de SaO₂ e o valor médio foram associados entre si. (D) O IAH e (E) IDI não foram associados com o nível sérico de HMGB1.

Tabela 2 Resultados do estudo do sono nos indivíduos estudados

Parâmetro	Valor
IAH, vezes/h	50,35 ± 27,96
IDR, vezes/h	51,56 ± 28,53
ID, vezes/h	31,09 ± 25,06
SaO ₂ média, %	93,66 ± 2,47
Valor mais baixo de SaO ₂ , %	75,97 ± 9,70
Eficiência do sono, %	86,58 ± 12,20
Maior duração da apneia, s	64,11 ± 34,10
Maior duração da hipopneia, s	55,39 ± 224,22
Duração média da apneia, s	28,80 ± 9,66
Duração média da hipopneia, s	27,42 ± 9,86
Escore médio da ESS	8,54 ± 4,69

ID, Índice de despertares; ESS, *Epworth sleepiness scale*.

de 51,56 ± 28,53 (tabela 2). As concentrações média e mais baixa de oxigênio arterial (SaO₂) foram 93,66% ± 2,47% e 75,97% ± 9,70%, respectivamente. A maioria dos pacientes incluídos tinha AOS grave (26 de 34 pacientes) e dois pacientes tinham AOS leve. A média de SaO₂ mínima foi de 96,1% no grupo de AOS leve, 95,01% ± 0,59% no grupo de AOS moderada e 73,26% ± 9,30% no grupo de AOS grave. A análise estatística com o nível sérico de HMGB1 e os resultados da PSG mostraram que o nível sérico de HMGB1 foi significativamente correlacionado com a SaO₂ média e com o seu valor mais baixo (fig. 2 A e B) e a SaO₂ média também foi associada com a SaO₂ mais baixa (fig. 2C). Entretanto, o nível sérico de HMGB1 não foi correlacionado com IAH e o índice de distúrbio respiratório (IDR) (fig. 2 D e E). Nas análises de regressão univariada e multivariada dos fatores clínicos e PSG avaliados, o valor mais baixo de SaO₂ foi o único fator que se manteve significativamente associado ao nível sérico de HMGB1 (tabela 3).

Tabela 3 Análises de regressão linear univariada e multivariada para identificar fatores associados ao nível sérico de HMGB1

Variáveis	Univariada		Multivariada	
	β (EP)	p-valor	β (EP)	p-valor
Idade	-0,093 (0,230)	0,601	-0,140 (0,210)	0,389
Sexo	-0,084 (14,773)	0,637	-0,100 (13,421)	0,537
IMC	0,0140 (1,024)	0,935	-0,100 (0,949)	0,544
IAH	-0,043 (0,126)	0,809		
IDR	-0,064 (0,125)	0,723		
ID	0,089 (0,144)	0,089		
SaO ₂ média	-0,378 (1,359)	0,028		
Valor mais baixo de SaO ₂	-0,478 (0,322)	0,004	-0,512 (0,340)	0,004
Maior duração de apneia	0,137 (0,103)	0,441		
Escore da ESS	0,118 (0,799)	0,526		

EP, Erro-padrão; IMC, Índice de massa corporal.

Discussão

As alterações na fisiologia normal devido à disfunção metabólica e endócrina, inflamação crônica, ao estresse e à hipóxia em pacientes com AOS estão associadas a alterações nos níveis séricos de várias moléculas.¹⁶ Entre essas alterações, nos concentramos nos eventos de hipoxemia e nos níveis de HMGB1. Condições de hipóxia aumentam o nível de ROS e estresse oxidativo induzido por ROS. O estresse oxidativo é um mecanismo importante na translocação extracelular de HMGB1 e um estudo anterior comprovou a correlação do nível sérico de HMGB1 com IDR em pacientes com AOS.⁹ O principal achado do presente estudo é que o nível sérico de HMGB1, que é um DAMP (padrões moleculares associados a dano) e mediador da imunidade inata, estava elevado no modelo murino de HIC, mas não se correlacionou com o IAH e IDR. Em vez disso, o nível mais baixo de SaO₂ foi significativamente associado aos níveis de HMGB1 no soro.

Várias reações inflamatórias estão comprovadamente associadas à AOS. Por exemplo, a ativação de monócitos¹⁷ e a ativação e proliferação de linfócitos T¹⁸ foram demonstradas na AOS. Além disso, as células B periféricas e as células T *natural-killer* (NKT) estavam reduzidas em pacientes com AOS.¹⁹ Essas células imunes e marcadores de células imunes foram associados com o IAH e os valores médio e mais baixo de SaO₂.²⁰ A HMGB1 é uma proteína ubíqua que está presente em vários tipos de células e pode ser liberada na área extracelular após estimulação. Na área extracelular, a HMGB1 funciona como um DAMP, também conhecido como alarmina, que sinaliza o dano celular e ativa o sistema imunológico inato.²¹ Neste estudo, verificamos que o nível extracelular de HMGB1 estava significativamente elevado no soro de camundongos com HIC, sugeriu que os eventos de hipóxia durante o sono aumentaram o nível extracelular de HMGB1. Isso está de acordo com nossos achados anteriores de que as condições de hipóxia aumentam o nível de ROS e a secreção de HMGB1 na área extracelular, sugere que a HMGB1 é um marcador útil para estimar o nível de estresse oxidativo.⁸ Como a HMGB1 extracelular pode funcionar como um DAMP, o nível sérico elevado de HMGB1 pode estar associado a eventos inflamatórios sistêmicos durante a patogênese da AOS. Portanto, mais estudos são necessários para identificar a ligação entre AOS e HMGB1 extracelular. Curiosamente, foi relatado que o nível de marcadores de estresse oxidativo na saliva foi associado à gravidade da AOS e que o tratamento com CPAP diminuiu significativamente as concentrações matinais desses marcadores na saliva.² Como a coleta de sangue é invasiva, monitorar o nível de HMGB1 na saliva e sua variação diurna seria outra abordagem na avaliação da HMGB1 como um biomarcador que reflete o nível de estresse oxidativo na AOS.

Que seja de nosso conhecimento, somente um estudo anterior avaliou o nível sérico de HMGB1 em pacientes com AOS.⁹ Naquele estudo, o nível sérico de HMGB1 correlacionou-se positivamente com o IDR, o que não é corroborado por nossos achados. As características dos

indivíduos incluídos em relação ao número de sujeitos, composição de gênero e média de idade foram semelhantes às do presente estudo. Essa discrepância significa que um grande estudo de base populacional deve ser feito para estabelecer o nível sérico de HMGB1 como um marcador biológico importante na AOS.

A novidade de nosso estudo é que avaliamos os níveis séricos de HMGB1 tanto em humanos quanto em um modelo murino. Como a HIC é considerada o mecanismo da via principal na AOS, os modelos murinos HIC são amplamente usados para estudar a AOS. Nosso achado de que camundongos com HIC tinham um nível mais alto de HMGB1 sérica apoia a ideia de que a HMGB1 extracelular no soro pode desempenhar um papel na patogênese da AOS. Neste estudo, seguimos nosso modelo de HIC anterior, que inclui 4 semanas de HIC. Existe a possibilidade de que a duração da HIC possa afetar o nível de HMGB1 e a diferença do nível de HMGB1 no modelo de camundongo com durações de HIC mais longas requer um exame mais aprofundado.

O presente estudo tem várias limitações. Em primeiro lugar, não estabelece uma relação causal entre HMGB1 e AOS. Isso limita nossas descobertas como um estudo preliminar e estudos adicionais devem ser feitos sobre como o nível sérico de HMGB1 pode ter valor clínico como um biomarcador. Em segundo lugar, este estudo é baseado em uma pequena população e não inclui indivíduos humanos normais. Existe a possibilidade de que a idade, o sexo e a presença de hipertensão subjacente possam afetar de maneira diferente o nível de HMGB1 sérico. Foi relatado que os níveis séricos de HMGB1 diminuem significativamente com a idade em indivíduos saudáveis.²² Além disso, como a maioria dos pacientes incluídos neste estudo tinha AOS grave, nossos achados podem não estar de acordo com a AOS leve. Terceiro, não avaliamos a relação entre o índice de dessaturação de oxigênio (ODI, do inglês *oxygen desaturation index*) ou a porcentagem do tempo total de sono com a dessaturação de oxigênio e o nível sérico de HMGB1. Estudos recentes sugerem que pacientes com IAH semelhante podem apresentar fisiopatologia diferente de acordo com a hipóxia noturna, como tempo total de sono com saturação de oxigênio < 90% ou ODI. Mais estudos são necessários para avaliar a relação entre a hipóxia noturna e o nível de HMGB1.²³ Por fim, avaliamos apenas o nível de HMGB1 e não avaliamos outras moléculas representativas do estresse oxidativo em pacientes com AOS.

Conclusão

Embora um estudo anterior mostrasse que o nível sérico de HMGB1 reflete a gravidade da doença em pacientes com AOS, observamos que o nível sérico de HMGB1 não estava associado ao IAH e o IDR. Em vez disso, verificamos que a HMGB1 sérica estava significativamente elevada em camundongos com HIC e que a concentração sérica de HMGB1 estava significativamente associada ao nível mais baixo de SaO₂ em pacientes com AOS. Novos estudos com uma população maior ajudariam a avaliar a utilidade da

HMGB1 como marcador biológico da AOS e suas consequências pela elevação do nível de HMGB1.

Contribuição dos autores

H.J. Min escreveu o manuscrito. J.S. Park, M. Kang e J.H. Seo fizeram os experimentos *in vitro* e *in vivo*. K.S. Kim avaliou os dados de indivíduos humanos com AOS. J.H. Yoon e C.H. Kim revisaram o manuscrito. H.J. Cho projetou os procedimentos experimentais e é o responsável pelo manuscrito.

Fontes de financiamento

Bolsa da National Research Foundation of Korea (NRF) financiada pelo governo coreano (NRF-2017R1A1A1A05000760 to H.J. Min). Parcialmente financiado por uma bolsa de pesquisa do Biomedical Research Institute, Chung-Ang University Hospital (2018). Apoio do Basic Science Research Program por meio da NRF da Coreia, financiado pelo Ministério da Educação (NRF-2018R1D1A1A02049236 para H.J. Cho).

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Agradecimentos

À *Medical Illustration & Design*, uma parte dos serviços de apoio à pesquisa médica da Yonsei University College of Medicine, por seu apoio artístico relacionado a este trabalho.

Apêndice A. Material adicional

Pode-se consultar o material adicional para este artigo na sua versão eletrônica disponível em [doi:10.1016/j.bjorlp.2022.09.002](https://doi.org/10.1016/j.bjorlp.2022.09.002).

Referências

1. Franczak A, Bil-Lula I, Sawicki G, Fenton M, Ayas N, Skomro R. Matrix metalloproteinases as possible biomarkers of obstructive sleep apnea severity – A systematic review. *Sleep Med Rev*. 2019;46:9–16.
2. Tóthová Ľ, Celec P, Mucska I, Hodossy J. Short-term effects of continuous positive airway pressure on oxidative stress in severe sleep apnea. *Sleep Breath*. 2019;23:857–63.
3. Lavie L. Obstructive sleep apnoea syndrome – An oxidative stress disorder. *Sleep Med Rev*. 2003;7:35–51.
4. Sivam S, Witting PK, Hoyos CM, Maw AM, Yee BJ, Grunstein RR, et al. Effects of 8 weeks of CPAP on lipid-based oxidative markers in obstructive sleep apnea: A randomized trial. *J Sleep Res*. 2015;24:339–45.
5. Czura CJ, Wang H, Tracey KJ. Dual roles for HMGB1: DNA binding and cytokine. *J Endotoxin Res*. 2001;7:315–21.
6. Deng MH, Scott MJ, Fan J, Billiar TR. Location is the key to function: HMGB1 in sepsis and trauma-induced inflammation. *J Leukoc Biol*. 2019;106:161–9.
7. Tang D, Billiar TR, Lotze MT. A Janus tale of two active high mobility group box 1 (HMGB1) redox states. *Mol Med*. 2012;18:1360–2.
8. Min HJ, Kim JH, Yoo JE, Oh JH, Kim KS, Yoon JH, et al. ROS-dependent HMGB1 secretion upregulates IL-8 in upper airway epithelial cells under hypoxic condition. *Mucosal Immunol*. 2017;10:685–94.
9. Wu KM, Lin CC, Chiu CH, Liaw SF. Effect of treatment by nasal continuous positive airway pressure on serum high mobility group box-1 protein in obstructive sleep apnea. *Chest*. 2010;137:303–9.
10. Koseoglu S, Ozcan KM, Ikinciogullari A, Cetin MA, Yildirim E, Dere H. Relationship between neutrophil to lymphocyte ratio, platelet to lymphocyte ratio and obstructive sleep apnea syndrome. *Adv Clin Exp Med*. 2015;24:623–7.
11. McNicholas WT. Diagnosis of obstructive sleep apnea in adults. *Proc Am Thorac Soc*. 2008;5:154–60.
12. Cho HJ, Heo W, Han JW, Lee YH, Park JM, Kang MJ, et al. Chronological change of right ventricle by chronic intermittent hypoxia in mice. *Sleep*. 2017;40.
13. Jordan AS, McSharry DG, Malhotra A. Adult obstructive sleep apnoea. *Lancet*. 2014;383:736–47.
14. Berry RB, Budhiraja R, Gottlieb DJ, Gozal D, Iber C, Kapur VK, et al. Rules for scoring respiratory events in sleep: Update of the 2007 AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events. Deliberations of the Sleep Apnea Definitions Task Force of the American Academy of Sleep Medicine. *J Clin Sleep Med*. 2012;8:597–619.
15. Sozer V, Kutnu M, Atahan E, Caliskaner Ozturk B, Hysi E, Cabuk C, et al. Changes in inflammatory mediators as a result of intermittent hypoxia in obstructive sleep apnea syndrome. *Clin Respir J*. 2018;12:1615–22.
16. Fleming WE, Holty JC, Bogan RK, Hwang D, Ferouz-Colborn AS, Budhiraja R, et al. Use of blood biomarkers to screen for obstructive sleep apnea. *Nat Sci Sleep*. 2018;10:159–67.
17. Gozal D, Farre R, Nieto FJ. Putative links between sleep apnea and cancer: From hypotheses to evolving evidence. *Chest*. 2015;148:1140–7.
18. Dyugovskaya L, Lavie P, Lavie L. Phenotypic and functional characterization of blood gamma delta T cells in sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;168:242–9.
19. Domagala-Kulawik J, Osinska I, Piechuta A, Bielicki P, Skirecki T. T. B, and NKT cells in systemic inflammation in obstructive sleep apnoea. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:161579.
20. Xie H, Yin J, Bai Y, Peng H, Zhou X, Bai J. Differential expression of immune markers in the patients with obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2019;276:735–44.

21. Bianchi ME. DAMPs. PAMPs and alarmins: All we need to know about danger. *J Leukoc Biol.* 2007;81:1–5.
22. Fu GX, Chen AF, Zhong Y, Zhao J, Gu YJ. Decreased serum level of HMGB1 and MyD88 during human aging progress in healthy individuals. *Aging Clin Exp Res.* 2016;28: 175–80.
23. Labarca G, Gower J, Lamperti L, Dreyse J, Jorquera J. Chronic intermittent hypoxia in obstructive sleep apnea: a narrative review from pathophysiological pathways to a precision clinical approach. *Sleep Breath.* 2020;24: 751–60.