



Universidad de Valladolid

Facultad de Medicina

Departamento de Medicina, Dermatología y Toxicología

TRABAJO FIN DE GRADO

**Relación entre los polimorfismos de
Apolipoproteína E e hipertensión arterial en
pacientes con síndrome de apnea-hipopnea del
sueño.**

Presentada por Ana Ramos Rodríguez y Juan Pablo Rodríguez Arias

Dirigida por:

Félix del Campo Matías

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la asociación entre los diversos genotipos de la Apolipoproteína E y la incidencia hipertensión arterial (HTA) en una cohorte de pacientes con trastornos respiratorios durante el sueño.

Diseño: Estudio prospectivo, observacional y de seguimiento de 8 años.

Sujetos: Se incluyeron 105 pacientes a los que se realizó una polisomnografía nocturna completa y se evaluaron los alelos de la ApoE. Se registraron las variables edad, sexo, índice de masa corporal, ingesta habitual de alcohol y hábito tabáquico. Además de la presencia de HTA al inicio del estudio y durante el seguimiento, así como la presencia de comorbilidades.

Resultados: La media de edad fue $55,6 \pm 12$ años. El alelo $\epsilon 3$ fue el más prevalente, así como el genotipo E3/E3 (68,3%). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre desarrollar HTA de novo y presentar los genotipos E2/E4 y E3/E4, en comparación con E3/E3 ($p=0,022$ y $p=0,046$). Demostrándose además diferencias entre los grupos y los alelos a favor de $\epsilon 4$, con un riesgo 4,8 veces más alto de desarrollar HTA en los sujetos portadores del mismo ($p<0,001$), manteniéndose estas asociaciones tras ajustar por edad, IMC e IAH.

Conclusiones: El alelo $\epsilon 4$ actúa como factor de riesgo en el desarrollo de HTA en pacientes con trastornos respiratorios del sueño. No se han encontrado evidencias de que la presencia de que el alelo $\epsilon 2$ actúe como factor protector ante el desarrollo de HTA, ni de la existencia de asociación entre la severidad del SAHS y la incidencia de HTA.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	3
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	7
2.1. Hipótesis	7
2.2. Objetivos	7
3. MATERIAL Y MÉTODOS	8
3.1. Diseño del estudio	8
3.2. Sujetos a estudio	8
3.3. Variables analizadas.....	8
3.4. Análisis estadístico	11
4. RESULTADOS	11
5. DISCUSIÓN	16
6. CONCLUSIONES	18
7. BIBLIOGRAFÍA	19

1. INTRODUCCIÓN

El Síndrome de Apnea Hipopnea del Sueño (SAHS) se caracteriza por episodios repetitivos de obstrucción de la vía aérea superior, bien total o parcial que ocurren durante el sueño, lo que puede dar origen a un sueño poco reparador, responsable de la somnolencia diurna que presentan estos pacientes. En la actualidad es considerado como un síndrome que engloba manifestaciones cognitivo-conductuales, metabólicas, cardíacas y respiratorias y cuya gravedad es evaluada en base al índice de apnea-hipoapnea (IAH), siendo la polisomnografía nocturna la prueba de referencia para el diagnóstico del SAHS. Un IAH mayor de 5 asociado a hipersomnolencia o a la presencia de dos o más síntomas no explicados por otras causas es diagnóstico de la enfermedad. ¹

El SAHS, al igual que otras enfermedades crónicas, ha despertado en la última década un gran interés en profundizar en sus aspectos genéticos. Hoy en día, es considerado como una enfermedad poligénica compleja ², en la que muy frecuentemente se describe una asociación familiar y en la que muchos de los aspectos que favorecen su existencia, tienen también una predisposición genética. A ello se debe añadir el impacto ambiental sobre la enfermedad. Todo ello hace pensar en la importancia de los aspectos genéticos a la hora de conseguir un mayor conocimiento fisiopatológico.

Además, se trata de una enfermedad muy frecuente. Duran y col ³ encuentran una prevalencia cercana al 20% en España, siendo ligeramente superior en hombres respecto a mujeres, aumentando con la edad y convirtiendo al SAHS en un problema de Salud Pública debido a su repercusión en la calidad de vida, a pesar de estar considerada una entidad infradiagnosticada.

Está establecido que el SAHS confiere un riesgo para la hipertensión arterial (HTA), así como para las complicaciones cardiovasculares y son diversos los estudios que confirman esta asociación, siendo Cole et al ⁴ hace más de 30 años uno de los pioneros en señalar la relación potencial entre la HTA y el SAHS. Desde el año 2005, varios estudios determinaron que el SAHS era un factor de riesgo independiente para la HTA, manteniéndose la asociación tras ajustar por edad,

sexo e IMC^{5,6}. A nivel nacional se concluyó lo mismo con Zamora et al⁷. Un año más tarde, en un estudio realizado por el Sleep Heart Health Study, se estableció una relación lineal entre el riesgo de HTA y el incremento del índice IAH⁸. Estudios más recientes como el realizado por Pedrosa y col⁹ en 125 pacientes concluyeron que la causa más frecuente de HTA secundaria era el SAHS. Así mismo, Deleanu et al¹⁰ en el 2014 demuestran que el tratamiento de la HTA refractaria mejora la sintomatología en el SAHS. Walia et al¹¹ en el 2014 concluyó que, independientemente de los factores confusionales analizados y del tratamiento antihipertensivo, el SAHS no tratado se asocia a valores altos de TA. Tal es la importancia, que se estima que representa el 15-20% de los costos totales de HTA¹².

A pesar de la evidencia, el intento en discernir aquellas variables que pueden influir en el riesgo de forma independiente y que tienden a aparecer con carácter simultáneo, como son la obesidad, edad, sexo masculino, entre otras; han constituido un tema central en la investigación de la morbimortalidad del SAHS, siendo ahora el turno de la investigación genética.

Sorprende que la susceptibilidad individual y la interacción del genotipo con los diversos factores de riesgo cardiovascular y metabólico es un área de investigación poco desarrollada en el SAHS. Las interrelaciones entre esa patología, obesidad, síndrome metabólico e HTA son realmente complejas y bidireccionales. Probablemente esta distinta susceptibilidad individual pueda permitir explicar porque pacientes con el mismo grado de severidad pueden desarrollar o no HTA.

Dentro del SAHS son múltiples los genotipos estudiados en relación con esta patología siendo uno de los que más interés ha suscitado, el gen de la Apolipoproteína E (ApoE).

1.1. ApoE

La ApoE, cuyo gen se encuentra en el cromosoma 19q13.2, es una proteína plasmática constituyente de las lipoproteínas, que tiene como función mantener la estructura y regular su metabolismo. Los tres alelos más comunes del gen de ApoE son $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ y $\epsilon 4$, los cuales producen tres isoformas de la proteína, llamadas E2, E3 y E4. Estos tres alelos diferentes son heredados en forma codominante dando

como resultado seis genotipos: E2/E2, E3/E2, E3/E3, E3/E4, E4/E4, E4/E2. Apo E3 es la isoforma de la proteína más común con una frecuencia de 78% en la población general y contiene una cisteína en la posición 112 y una arginina en la posición 158. Apo E2, que posee la más baja frecuencia, se encuentra en el 8%-11% y contiene cisteína en ambas posiciones. Apo E4 se encuentra en el 2% al 12% de la población y contiene arginina en ambas posiciones^{13,14}.

El interés de la ApoE radica en su asociación con un mayor incremento de enfermedades cardiovasculares, entre ellas la HTA, y con las enfermedades neurodegenerativas. Además, en los últimos años ha adquirido un mayor interés por su posible actuación como modulador de la respuesta inflamatoria, como acción antioxidante o interviniendo en la agregación plaquetaria, participando de forma activa y diversa en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares.¹⁵

El polimorfismo E4 se relaciona cada vez de forma más estrecha con la enfermedad de Alzheimer y con el desarrollo de enfermedad coronaria. Con respecto a esta última, en 2016, Xu M et al ¹⁶ y Konialis C et al ¹⁷, publicaron un metaanálisis y un estudio observacional respectivamente, en los que concluían que la isoforma E4 supone un factor de riesgo independiente para el desarrollo de enfermedad isquémica coronaria.

Mientras que el alelo $\epsilon 2$ se relaciona con menor nivel de c-LDL circulante, el alelo $\epsilon 4$ parece tener mayores niveles plasmáticos tanto de colesterol total como de c-LDL.^{18,19}. Del mismo modo, desde el primer metaanálisis, publicado en 1992²⁰, hasta uno de los más recientes, de 2015 ²¹, relacionan los genotipos E3/E4 y E4/E4 con un mayor riesgo de desarrollar una enfermedad coronaria. Estos genotipos se asocian del mismo modo con la enfermedad de Alzheimer ²², a excepción del homocigoto E2/E2, que recientes estudios lo relacionan con la aparición de Alzheimer de inicio precoz²³, a pesar de que siempre se había considerado un factor protector para el Alzheimer de inicio tardío.²⁴

1.2. ApoE, SAHS e HTA.

Hasta hace poco, la información publicada sobre esta asociación era contradictoria, proveniente de estudios, muchos de ellos apoyados en pequeños tamaños muestrales. En los dos últimos años se han publicado dos metaanálisis que no establecen asociación entre los polimorfismos de ApoE y el SAHS ^{25,26}.

Aunque la implicación del ApoE con el SAHS ha sido un tema ampliamente debatido en la literatura, sorprende que apenas se haya estudiado las implicaciones de este genotipo en la presencia de HTA en pacientes con SAHS, dado que la HTA esencial se comporta como una enfermedad compleja causada igualmente por factores genéticos y ambientales.

La isoforma E4 se viene relacionando de forma estrecha y directa con el desarrollo de HTA esencial desde que se empezó a profundizar en el estudio de esta asociación con el cambio de milenio.^{27,28} Dos metaanálisis de casos y controles sin restricción de tamaño muestral mostraban que, los portadores del alelo $\epsilon 4$ de ApoE en población china tuvieron un riesgo 79% mayor de HTA en comparación con sus homólogos portadores de alelo $\epsilon 3$, con una OR de 1,79 (IC del 95%: 1,04 a 3,09). Después de asignar el genotipo E3/E3 como grupo de referencia, se observó una asociación significativa entre genotipo E4/E4 e HTA. Sin embargo, la asociación observada entre el genotipo E3/E4 e HTA resultó no significativa (OR = 1,09; IC del 95%, 0,91 a 1,31; P = 0,36).^{29,30}

En un estudio realizado en pacientes con depresión, Hestad et al³¹ encuentra que el efecto de la ApoE4 en la TA difería entre los pacientes con depresión y el grupo control. En pacientes con depresión, la ApoE4 se asoció con un mayor aumento de TA que en los del grupo control, mostrándose que los pacientes con la combinación de ApoE4 y depresión tenían aumentada de media 21,5 mmHg la TA sistólica respecto a los pacientes con y sin la ApoE E4 en el grupo de depresión.

Sin embargo, no todos los estudios encuentran la asociación ApoE4 e HTA. Wisan et al³² en un estudio de casos y controles y metaanálisis concluía que no existía asociación significativa directa entre los polimorfismos de ApoE y la HTA, pese a que el alelo $\epsilon 4$ fue ligeramente más frecuente en los pacientes hipertensos que en el grupo control (OR = 1.055, 0.471-2.359, IC 95 %).

Aunque se trata de una cohorte poblacional y no un estudio de cohortes, cabe destacar el estudio que se realizó en 2008 en la ciudad de Bambuí, Brasil. En éste, en comparación con los homocigotos E3, ni el E2 ni el estado portador E4 se asociaron con HTA (proporciones de prevalencia ajustadas = 0,94, IC del 95% = 0,83-1,07 y 0,98, 0,89-1,07, respectivamente), concluyendo que el genotipo ApoE no está asociado con HTA prevalente en la vejez³³.

A pesar de los datos existentes en la literatura acerca de esta asociación, no ha sido evaluada en pacientes con trastornos respiratorios del sueño.

2. HIPÓTESIS

Las interrelaciones entre el síndrome de apnea hipopnea del sueño (SAHS), la obesidad, y la HTA son realmente complicadas. El SAHS confiere un riesgo de HTA y de complicaciones cardiovasculares de forma independiente. En la actualidad, el SAHS es aceptado como una enfermedad poligénica compleja. La ApoE es un precursor aterosclerótico, relacionándose su presencia con un mayor incremento de enfermedades cardiovasculares, secunde a su posible actuación en la respuesta inflamatoria y antioxidante. En los últimos años ha adquirido especial interés como posible modulador de las complicaciones cardiovasculares y del desarrollo de trastornos cognitivos. La ApoE podría desempeñar un papel importante en la aparición de HTA en pacientes con trastornos respiratorios del sueño.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo principal

El objetivo del estudio ha sido evaluar la asociación entre los diversos genotipos de la ApoE y la incidencia de HTA de novo en el seguimiento a largo plazo de una cohorte de pacientes con trastornos respiratorios durante el sueño.

3.2. Objetivos secundarios

Evaluar la posible asociación entre la gravedad del SAHS y la incidencia de HTA.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Diseño del estudio

Estudio de cohortes prospectivo, longitudinal, de una muestra de pacientes remitidos a la unidad del sueño del Hospital Río Hortega de Valladolid, por sospecha clínica moderada-alta de presentar un trastorno respiratorio del sueño entre enero y octubre del 2008, seguidos durante un periodo de ocho años. Todos los pacientes fueron mayores de 18 años, no incluyéndose a aquellos que se encontraban en tratamiento con CPAP o presentaban otra alteración no respiratoria de su cuadro. Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado y se obtuvo la aprobación del Comité de Ética e Investigación Clínica.

4.2. Sujetos a estudio

Se incluyen en el estudio 105 pacientes remitidos de forma consecutiva a la unidad de sueño y ventilación del Hospital Río Hortega de Valladolid, durante el primer trimestre del año 2008. Las variables del estudio fueron recogidas de forma protocolizada. La información clínica fue obtenida de la historia clínica y de la base de datos de servicio de Neumología. Se registraron las variables edad, sexo, índice de masa corporal, ingesta habitual de alcohol (sí/no), hábito tabáquico (fumador activo, exfumador, no fumador), y paquetes/año. Se valoró la presencia de HTA al inicio del estudio y durante el seguimiento, así como la presencia de comorbilidades. La somnolencia diurna fue evaluada mediante la escala de somnolencia de Epworth.

4.3 Métodos

Al inicio del estudio se realizó a todos los pacientes un registro polisomnográfico nocturno (Alice 5), el cual fue analizado de acuerdo a los criterios de la Academia Americana de Medicina del Sueño y fue evaluada de forma manual por un experto en sueño. Se incluyó el registro de canales de electroencefalografía, movimientos oculares, electromiograma mentoniano, flujo aéreo mediante

termistor y sonda de presión, ronquido, posición corporal, esfuerzo toracoabdominal mediante inductancia, saturación de oxígeno y registro con vídeo.

Se definió como apnea la reducción discernible del flujo aéreo ($\geq 90\%$) durante al menos 10 segundos en la señal de termistor e hipopnea a una reducción discernible del flujo aéreo en la señal de sonda de presión o de las bandas toracoabdominales $\geq 30\%$ y $<90\%$ durante al menos 10 segundos acompañado de una desaturación 3% y/o de la presencia de un arousal. Se consideró como registro válido si el paciente había dormido más de tres horas, incluyendo la posición en decúbito supino y la entrada en fase REM. El IAH fue calculado como el sumatorio común del número de apneas e hipopneas dividido entre el número total de horas de sueño. Se consideró SAHS de carácter leve si $5 \leq \text{IAH} < 15$ e/h, SAHS moderado si $15 \leq \text{IAH} < 30$ e/h y SAHS grave si el paciente presentaba un IAH ≥ 30 e/h. Con respecto a la señal de SpO₂ se evaluó la saturación basal inicial, mínima, los índices de desaturación del 3% (ODI₃), del 4% (ODI₄) y el tiempo que la saturación permaneció por debajo del 90% (CT₉₀).

Las determinaciones genéticas se llevaron a cabo en ADN extraído mediante métodos convencionales (MagNaPureCompact Nucleic Acid Isolation Kit, Roche Diagnostics. Mannheim, Germany) de leucocitos de sangre periférica con anticoagulante (EDTA). El genotipo ApoE se determinó utilizando PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction Restriction Fragment Length Polymorphism) según el protocolo descrito por Hixon et al.³⁴

También se empleó un método de genotipado ApoE mediante la técnica de HRM (High Resolution Melting) que permite analizar hasta 96 muestras a la vez, basándose en el perfil de melting de cada uno de los genotipos posibles. Los primers utilizados fueron los mismos que para el método anterior.

Tanto la amplificación como el análisis HRM se llevaron a cabo en un LightCycler® 480 Instrument (Roche Diagnostics). Las reacciones de PCR se realizaron en un volumen final de $10 \mu\text{l}$, utilizando LightCycler® 480 High Resolution MeltingMaster (, Roche Diagnostics) 1x, que contiene FastStart Taq DNA Polimerasa, nucleótidos y ResoLight dye (Roche Diagnostics), un fluoróforo saturante, todo ello en un buffer sin Cl₂Mg. Se añadió DMSO al 10% , 200nM de cada primer y $2,5\text{mM}$ de Cl₂Mg, así como 30ng de ADN genómico. Las condiciones de PCR incluyen una etapa de activación inicial a 95°C durante 10 minutos seguido de 50 ciclos de 95°C 10 segundos, 58°C 15 segundos y 72°C 10 segundos. Antes

de la etapa de melting, los productos de PCR se calentaron a 95°C durante 1 minuto y se enfriaron a 40°C durante otro minuto para favorecer la formación de heterodúplex. El HRM se llevó a cabo en un rango entre 65 y 95°C con un RampRate de 0.02°C por sg y 25 adquisiciones por grado.

Se ha considerado HTA a presentar valores mayores a 140 mmHg de TA sistólica (TAS), de 90 mmHg de TA diastólica (TAD), a que figurase el diagnóstico en su historia clínica y a que el paciente estuviese tomando medicación antihipertensiva.

4.3. Análisis estadístico

El objetivo principal del estudio ha sido la incidencia de HTA de novo en la cohorte de pacientes con trastornos respiratorios del sueño, definido como la aparición de HTA en el periodo comprendido entre la realización del estudio polisomnográfico y el 31 de diciembre del año 2016.

Las variables numéricas han sido expresadas como medias y las cualitativas como valores absolutos (porcentajes). Las diferencias basales entre las variables fueron comparadas mediante el test no paramétrico de Kruskal-Wallis y para variables cualitativas el chi square. Los pacientes que no desarrollaron HTA fueron censurados al final del seguimiento. Se utilizó la técnica de Kaplan Meier para valorar la incidencia de HTA en función de la presencia o no del alelo $\epsilon 4$. La asociación entre la incidencia de HTA y el alelo $\epsilon 4$ fue evaluada mediante el análisis de regresión de Cox con ajuste por edad, IMC e IAH. Los resultados fueron expresados como odds ratios con su intervalo de confianza del 95%.

Para los cálculos estadísticos se empleó el paquete SPSS v20. El nivel de significación estadística (riesgo alfa) asumido durante todo el estudio fue del 5%.

5. RESULTADOS

En la figura 1 se presenta el diagrama de flujo de los pacientes incluidos en el estudio. De los 105 pacientes que fueron evaluados, 46 presentaban HTA en el momento de la inclusión en el estudio.

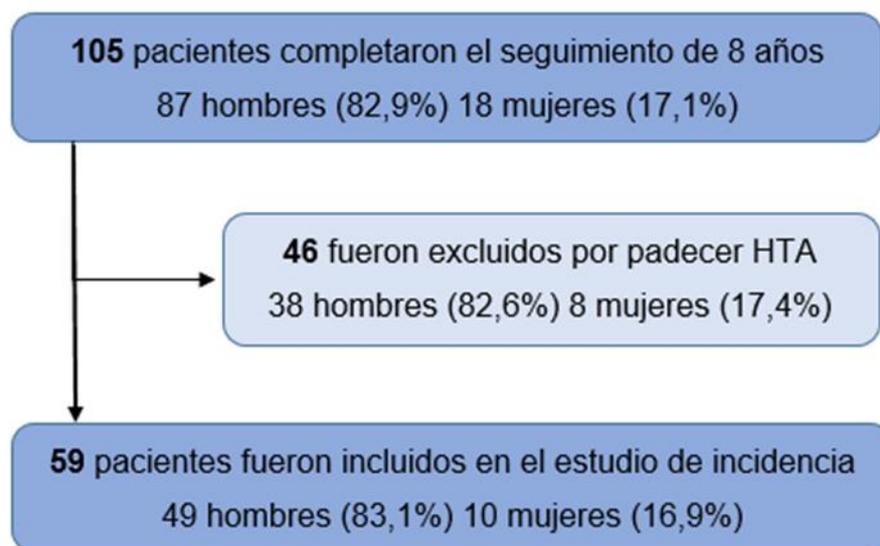


Figura 1. Diagrama de flujo pacientes incluidos en el estudio.

Con respecto a las características de los sujetos incluidos en el estudio (tabla 1), la media de edad fue de $55,6 \pm 12$ años, con mínima de 23 y máxima de 82 años. Un 17,1% fueron mujeres. En cuanto a la obesidad, presentaron un IMC de $30,9 \pm 5,9$, con un rango de 22,3-56. Por último, el grado de somnolencia, medido por la escala de Epworth, resultó de $11,07 \pm 5,2$.

En relación a los datos polisomnográficos, un 2,9% tenía un IAH <5 , un 10,6% tenían un IAH entre 5-15, un 28,8% entre 15 y 30 y un 57,7% tenían un IAH >30 . En cuanto a la presencia de comorbilidades, al inicio del estudio 46 sujetos (43,8%) presentaban HTA, 4,8% una cardiopatía isquémica, y un 33,3% presentaban alteración del metabolismo lipídico. La HTA fue más frecuente en varones que en mujeres. Y referente a los hábitos tóxicos, un 23,8% eran fumadores habituales y un 15,2% exfumadores. Un 10,5% de los pacientes eran bebedores habituales. Un 46,7% de los pacientes a la finalización del estudio se encontraban en tratamiento con ventilación nasal nocturna mediante CPAP.

Tabla1: Características generales.

Variable	TOTAL N=105
Edad	55,6±12
Sexo (varones)	82,9%
IMC	30,9±5,9
Fumador	23,8%
Exfumador	15,2%
Alcohol	10,5%
C.Isquémica	4,8%
ECV	1%
HTA basal	43,8%
IAH	
IAH	41,4±26
ID3%	38,19±28
CT90%	27,8±34

En la tabla 2 se muestran los distintos genotipos de APOE y alelos obtenidos en este estudio. El alelo $\epsilon 3$ y el genotipo E3/E3 fueron los más prevalentes en la muestra analizada. No se encontró ningún sujeto con genotipos E2/E2 ni E4/E4. La distribución encontrada es similar a la descrita en la población general.

Tabla 2: Frecuencia de los genotipos y alelos de la ApoE.

Genotipos	Total
E2/E3	12,4%
E2/E4	6,7%
E3/E3	63,8%
E3/E4	17,1%
Alelos	Total
$\epsilon 4$	11,9%
$\epsilon 2$	10%
$\epsilon 3$	78,1%

Se encontró una asociación estadísticamente significativa ($p=0,004$) entre la severidad del SAHS y los distintos genotipos. No hubo diferencias con respecto al IAH entre los distintos genotipos (E2E3 35,1%; E2E4 33%; E3E3 43%; E3E4 41%, $p=0,665$).

En el análisis univariante la edad, el IAH y el índice de desaturación se relacionaron con la HTA. Tras ajustar por edad, sexo e IMC tan solo la edad y el índice de desaturación del 3% se mantuvieron estadísticamente significativos,

mientras que la significación de la IAH fue de $p= 0,06$, probablemente debido al reducido tamaño muestral (tabla 3).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la severidad del SAHS y la presencia de HTA, si bien la prevalencia de HTA fue mas elevada en pacientes con SAHS severo (51,7% en pacientes con un IAH > 30 versus 0% en los que presentaban un IAH<5).

Con respecto a los distintos genotipos, no se encontraron diferencias con respecto a la presencia o no HTA al inicio del estudio. Tampoco se evidenció que el sexo masculino, IMC, presencia de alelo $\epsilon 2$, alelo $\epsilon 4$ actúen como factores de riesgo.

Tabla 3: HTA y factores de riesgo ajustado por edad, IMC e IAH.

Variable	OR (IC95%)	OR ajustado
Edad	1,04 (1-1,07)	1,05 (1,01-1,09)
Sexo	1,03 (0,37-2,3)	
IMC	1,04 (0,97-1,12)	
$\epsilon 4$	0,81 (0,32-2)	
$\epsilon 2$	0,8 (0,3-2,2)	
IAH	1,02 (1-1,03)	1,01 (0,99-1,03)
CT90%	0,9 (0,9-1,05)	
ODI3	1,02 (1-1,04)	1,02 (1-1,04)

De los 59 pacientes no hipertensos seguidos durante 8 años, desarrollaron HTA un 25,4% (15 pacientes). En la tabla 4 se muestran las características diferenciales entre los pacientes según desarrollaran o no HTA. Desde un punto de vista clínico la presencia de HTA de novo se asoció a la edad y a la ingesta de alcohol ($p=0,043$). No hubo diferencias para las variables polisomnográficas como son la eficacia del sueño, la severidad del SAHS en función del IAH y de las desaturaciones.

Tabla 4: HTA y factores de riesgo en tras seguimiento.

Variable	TOTAL	HTA n=15(25,4%)	No HTA n=44(74,6%)	p
Edad	53,3±12,5	58,9	51,3	0,043
Sexo varón	83,1	86,7	81,8	0,666
IMC	30,3±5,5	29,5	30,6	0,542
Fumador	42,3	40,2	63,6	0,133
Alcohol	8,5	26,7	2,3	0,003
Efic.Sueño	-	86,5	87,3	0,849
IAH	34,8±23,7	40	33,2	0,354
ID3%	30,5±25,2	32,7	29,8	0,710
CT90%	31,1±39,1	34,1	30,2	0,750
SAHS severo	49,2	71,5	43,3	0,116
ε4	-	60,1	13,6	<0,001
ε2	-	20,1	22,7	0,826
E2/E3	13,6	0	18,2	0,003

La aparición de HTA en el seguimiento se asoció a tener un alelo ε4 (p<0,001), E2/E4 y E3/E4, tal como se muestra en las gráficas de Kaplan Meier.

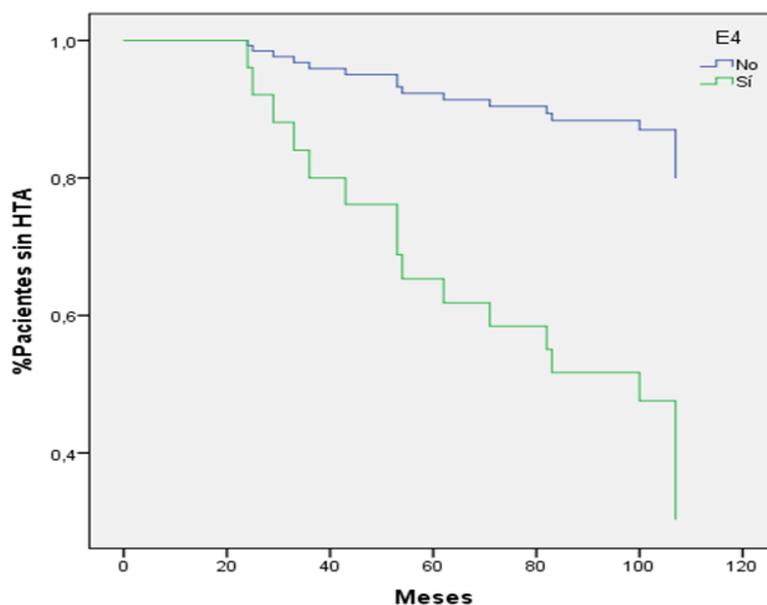


Figura 2. Aparición de HTA durante el seguimiento de 8 años según alelo ε4.

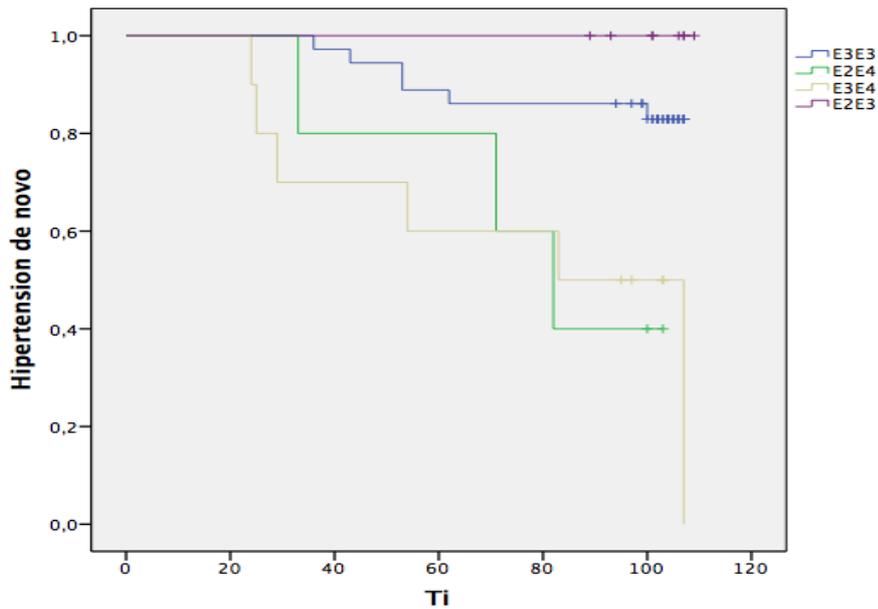


Figura 3. Aparición de HTA durante el seguimiento de 8 años según genotipo.

En el análisis de Cox, la presencia del alelo $\epsilon 4$ se ha mantenido de forma significativa en el desarrollo de HTA, tras ajustar por edad, IMC e IAH. La presencia de éste parece actuar como factor de riesgo para la HTA ($p < 0,009$), puesto que el 60,1% de los portadores desarrollaron HTA frente al 13,6 % que no. Además, después de asignar el genotipo E3/E3 como grupo de referencia, se observó una asociación significativa entre genotipo e HTA para los genotipos E2/E4 y E3/E4, mostrándose como factores de riesgo para la HTA ($p = 0,029$ y $p = 0,005$ respectivamente), manteniéndose tras ajustar por edad, IMC e IAH (tabla 5).

Tabla 5. Alelo, genotipos E4 e HTA ajustado por edad, IMC e IAH.

	Sig.	OR	95% CI para OR	
			Inferior	Superior
$\epsilon 4$	0,009	4,845	1,491	15,746
E2/E4	0,022	5,5	1,2	24,3
E3/E4	0,046	3,8	1,09	14,3
Edad	0,355	1,020	0,978	1,065
IMC	0,684	0,969	0,831	1,129
IAH	0,362	1,013	0,986	1,040

La valoración del tratamiento o no con CPAP no modificó los resultados. No se encontró una asociación significativa entre el desarrollo de HTA y los grados de severidad del SAHS.

6. DISCUSIÓN

Nuestro estudio sugiere una asociación entre el alelo $\epsilon 4$ y el riesgo de desarrollar HTA en pacientes con trastornos respiratorios del sueño en un periodo de seguimiento de 8 años. La presencia de éste actúa como factor de riesgo independiente para la HTA, desarrollándola el 60,1% de los portadores frente al 13,6 % que no lo hace. En la revisión realizada en la literatura no se ha encontrado ningún estudio de cohortes a largo plazo que evalúe la presencia del impacto de los distintos genotipos de ApoE en relación con la aparición de HTA en pacientes con trastornos respiratorios del sueño.

La distribución de los genotipos en nuestra serie fue similar a la descrita en la población general. No se encontraron pacientes con el genotipo E2/E2 y E4/E4, que producen los isotipos más extremos. En nuestro estudio ni el IMC ni el IAH al inicio tuvieron implicaciones en el desarrollo de HTA. La contribución de la edad es la propia atribuible al envejecimiento en la población general, tal y como evidenció en un estudio reciente de Cano ³⁵ sobre trastornos respiratorios del sueño en una población general realizado en Vitoria, concluyendo que la edad es un factor de riesgo para hipertensión grave (Hipertensión 2) y el IMC.

Los resultados existentes muestran una asociación entre HTA y ApoE4 especialmente en población asiática. Así, el metaanálisis de Stoumpos ³⁶, en 2013, encontró una OR de 1.39 (95% IC: 1.12 a 1.72) para los pacientes portadores de alelo $\epsilon 4$ respecto a no portarlo.

En estudios previos como el de Gottlieb et al ³⁷, si bien en población general, concluyeron que los portadores de $\epsilon 4$ se asociaban con mayor riesgo de SAHS, especialmente en menores de 65 años, sobre todo en aquellos con HTA o enfermedad vascular.

En contraposición con esta aparente relación, hay autores que no establecen asociación entre riesgo cardiovascular y E4 como Ferreira et al ³⁸, que no encuentra una asociación entre E4 e HTA o síndrome metabólico e incluso en la literatura, se puede encontrar una asociación protectora para E4 ³⁹. También se encontró para E2, algo más en relación con los resultados actuales ^{40,41}, pero que no han sido evidenciables en el presente estudio.

Por otro lado, la asociación entre HTA de novo y pacientes con SAHS está siendo, últimamente, muy debatida. En un artículo reciente, Lacedonia et al ⁴² identificaron tres subgrupos diferentes de pacientes con SAHS, siendo los que pertenecían al grupo con mayor índice de apnea-hipopnea y mayor hipoxemia nocturna, aquellos que presentaron la mayor prevalencia de HTA. En nuestro estudio, ni los síntomas (EDS) ni la hipoxia nocturna, que fueron evaluados por CT90 ($p=0,861$) y el índice de desaturación de oxígeno (ODI), se asociaron independientemente con la HTA incidente.

No se encontraron diferencias significativas con respecto a que los pacientes se encontraran en tratamiento o no con CPAP, si bien hay que considerar que el presente estudio no se diseñó con ese objetivo, por lo que no se puede concluir que la CPAP es un tratamiento ineficaz.

El interés suscitado por los polimorfismos de la ApoE viene justificado por la posibilidad de tratar a los pacientes en función de su riesgo personal y de ajuste de tratamiento, siendo este mucho más efectivo a la par que eficiente. Se abre una nueva línea de investigación terapéutica cuya diana son los genes ⁴³, favoreciendo una medicina mas personalizada ⁴⁴.

Una de las principales limitaciones del estudio es que se trata de una cohorte de pacientes diagnosticados de SAHS pertenecientes a un solo centro (HURH) con un tamaño muestral reducido, si bien el periodo de seguimiento es adecuado. Por otra parte, tal como sucede en la mayoría de las series de pacientes con SAHS, al diagnóstico de HTA en el momento del estudio polisomnográfico era muy elevada.

Los resultados obtenidos suscitan interés en seguir investigando en esta línea, para terminar de clarificar la asociación que parece evidenciarse, así como el grado, asentando las bases genéticas que contribuyen a la compleja fisiopatología de SAHS.

7. CONCLUSIONES

- El alelo $\epsilon 4$ de la ApoE actúa como factor de riesgo en el desarrollo de HTA en individuos con trastornos respiratorios del sueño, incluso tras ajustar por los factores de confusión habituales.
- No se han encontrado evidencias de que el alelo $\epsilon 2$ actúe como factor protector ante el desarrollo de HTA.
- Los pacientes con genotipos E3/E4 y E2/E4 tienen un mayor riesgo de desarrollar hipertensión arterial a largo plazo.
- No se ha evidenciado una asociación entre la gravedad del SAHS medida por el IAH y la incidencia de HTA de novo.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Epstein LJ, Kristo D, Strollo PJ Jr, et al. Adult Obstructive Sleep Apnea Task Force of the American Academy of Sleep Medicine. Clinical Guideline for the Evaluation, Management and Long-term Care of Obstructive Sleep Apnea in Adults. *J Clin Sleep Med* 2009;5(3):263-276.
2. Riha RL, McNicholas WT. The genetic and cardiovascular aspects of obstructive sleep apnoea/hypopnoea syndrome. *Eur. Respir. J.* 2009; 33: 233 – 236
3. Duran J, Esnaola S, Rubio R, et al. Obstructive sleep apnea hypopnea and related clinical features in a populationbased sample of subjects aged 30 to 70 yr. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001; 163:685-689.
4. Kales A, Cardieux RJ, Shaw LC, et al. Sleep apnea in hypertensive population. *Lancet.* 1984; ii:1005.
5. Peppard PE, Young T, Palta M, et al. Prospective study of the association between sleep-disordered breathing and hypertension. *N Engl J Med* 2000;342:1378-1384
6. Lavie P, Ben-Yosef R, Rubin AE. Prevalence of sleep apnea syndrome among patients with essential hypertension. *Am Heart J* 1984;108:373-376.
7. Zamora E, Casanova A, Chao P, et al. Síndrome de la apnea obstructiva del sueño y factores de riesgo cardiovasculares. 2001. *Revista de patología respiratoria* 2005; 8:162-165.
8. American Academy of Sleep Medicine. International Classification of Sleep Disorders: Diagnostic and Coding Manual. 2nd ed. Westchester, Ill: American. Academy of Sleep Medicine; 2005.
9. Pedrosa RP, Drager LF, Gonzaga CC. Obstructive sleep apnea: the most common secondary cause of hypertension associated with resistant hypertension. 2011;58:811–817.
10. Deleanu OC, Mălăuț AE, Nebunoiu AM et al. Obstructive sleep apnea syndrome and arterial hypertension- a complicated relationship? The role of controlling blood pressure values in patients with OSAS. *Pneumologia.* 2014; 63(1):36-43.
11. Walia HK, Li H, Rueschman M, et al. Association of severe obstructive sleep apnea and elevated blood pressure despite anti-hypertension medication use. *J Clin Sleep Med.* 2014;10:835–43.
12. Wang AY. Sleep disordered- breathing and resistant hypertension. *Semin Nephrol.* 2014;34(5):520-31.
13. Hallman DM, Boerwinkle E, Saha N, et al. The apolipoprotein E polymorphism: a comparison of allele frequencies and effects in nine populations. *Am J Hum Genet* 1991;49:338–349.
14. Rall SC Jr, Weisgraber KH, Mahley RW. Human apolipoprotein E. The complete amino acid sequence. *J BiolChem* 1982;257:4171–4178.
15. Liu CC, Kanekiyo T, Xu H et al. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms, and therapy. *Nature Reviews. Neurology,* 2006; 9(2), 106–118.
16. Konialis C, Spengos K, Iliopoulos P, et al. The ApoE4 allele confers increased risk of ischemic stroke among greek carriers. *Adv Clin Exp Med.* 2016; 25(3):471-8..
17. Xu M, Zhao J, Zhang Y, et al. Apolipoprotein E Gene Variants and Risk of Coronary Heart Disease: A Meta-Analysis. *BioMed Research International.* 2016, 3912175
18. Stannard AK, Riddell DR, Sacre SM, et al. Cell-derived Apolipoprotein E (ApoE) particles inhibit vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) expression in human endothelial cells. *Journal of Biological Chemistry.* 2001;276(49):46011–46016.
19. Moghadasian MH, McManus BM, Nguyen LB, et al. Pathophysiology of apolipoprotein E deficiency in mice: relevance to apo E-related disorders in humans. *The FASEB Journal.* 2001;15(14):2623–2630.
20. Dallongeville J, Lussier-Cacan S, Davignon J. Modulation of plasma triglyceride levels by apoE phenotype: a meta-analysis. *Journal of Lipid Research.* 1992;33(4):447–454.
21. Zhang Y, Tang HQ, Peng WJ, et al. Meta-analysis for the association of apolipoprotein E epsilon2/epsilon3/epsilon4 polymorphism with coronary heart disease. *Chinese Medical Journal.* 2015; 128:1391–1398.

22. Myers RH, Schaefer EJ, Wilson PW, et al. Apolipoprotein E epsilon4 association with dementia in a population-based study: The Framingham study. *Neurology*. 1996; 46(3):673-7
23. Cole L, Belden C, Jacobson S, et al. Probable Early-Onset Alzheimer's Disease in an Apolipoprotein E2 Homozygote. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 2010; 30(5), 387–391.
24. Corder EH, Saunders AM, Risch NJ, et al. Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer disease. *Nat Genet*. 1994;7(2):180-4
25. Lu Z, Wu X, Jin X, et al Apolipoprotein E $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ variant in association with obstructive sleep apnoea and lipid profile: A meta-analysis. *J Int Med Res*. 2016;44(1):3-14.
26. Xu H, Qian Y, Guan J, et al. No association between the ApoE $\epsilon 2$ and $\epsilon 4$ alleles and the risk of obstructive sleep apnea: A systematic review and meta-analysis. *BiomedicalReports*, 3,313-318.
27. Kolovou GD, Anagnostopoulou KK, Cokkinos DV. Apolipoprotein epsilon4 homozygosity and essential hypertension. *South Med J*. 2004;97(10):1022
28. Li X, Du Y, Huang X. Association of apolipoprotein E gene polymorphism with essential hypertension and its complications. *Clin Exp Med*. 2003;2(4):175-9.
29. Niu WQ, Qi Y. Meta-based evidence for apolipoprotein E epsilon2/epsilon3/epsilon4 polymorphism in association with hypertension among Chinese. *J Hum Hypertens*. 2011; 25(12):725-31.
30. Niu W, Qi Y, Qian Y, et al. The relationship between apolipoprotein E epsilon2/epsilon3/epsilon4 polymorphisms and hypertension: a meta-analysis of six studies comprising 1812 cases and 1762 controls. *Hypertens Res*. 2009; 32(12):1060-6
31. Hestad KA, Engedal K, Whist JE, et al. The effect of ApoE e4 on blood pressure in patients with and without depression. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. 2016;12, 1365–1370.
32. Wisam NI, Norsidah KZ, Samsul D, et al. Apolipoprotein E Gene Polymorphisms in Essential Hypertension: A Preliminary Study with Meta-analysis." *International Medical Journal Malaysia*, 2016; 14 (2): 45-52.
33. Fuzikawa AK, Peixoto SV, Taufer M, et al. Association of ApoE polymorphisms with prevalent hypertension in 1406 older adults: the Bambuí Health Aging Study (BHAS). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2008; 41(2), 89-94.
34. Hixson JE, Vernier DT. Restriction isotyping of human apolipoproteinE by gene amplification and cleavage with HhaI. *J Lipid Res*. 1990;31: 545–548.
35. Cano-Pumarega I, Barbé F, Esteban A. Sleep Apnea and Hypertension: Are there genderdifferences? The Vitoria Sleep Cohort, CHEST (2017), doi: 10.1016/j.chest.2017.03.008.
36. Stoumpos S, Hamodrakas SJ, Anthopoulos PG, et al. The association between apolipoprotein E gene polymorphisms and essential hypertension: a meta-analysis of 45 studies including 13,940 cases and 16,364 controls. *J Hum Hypertens*. 2013; 27(4):245-55
37. Gottlieb DJ, DeStefano AL, Foley DJ et al. APOE epsilon4 is associated with obstructive sleep apnea/hypopnea: The Sleep Heart Health Study. *Neurology*. 2004;63: 664–668.
38. Ferreira DC, Costa TF, Aguiar SLF, et al. Association of apolipoprotein E polymorphisms and metabolic syndrome in subjects with extreme obesity. *Clin Chimica Acta*. 2011, 412: 1559-1562.
39. Hsu CC, Kao WH, Coresh J, et al. Apolipoprotein E and progression of chronic kidney disease. *JAMA*. 2005, 293: 2892-2899. 1
40. Ferreira CN, Carvalho MG, Fernandes AP. Comparative study of apolipoprotein-E polymorphism and plasma lipid levels in dyslipidemic and asymptomatic subjects, and their implication in cardio/cerebrovascular disorders. *Neurochem Int*. 2010; 56(1):177-82.
41. Sun Y, Wei R, Yan D, et al. Association between APOE polymorphism and metabolic syndrome in Uyghur ethnic men. *BMJ Open*. 2016;6;6(1): e010049.
42. Lacedonia D, Carpagnano GE, Sabato R, et al Characterization of obstructive sleep apnea–hypopnea syndrome (OSA) population by means of cluster analysis. *J Sleep Res*, 2016; 25: 724–730.
43. Robert W, Mahley KH, Huang W, et al. Apolipoprotein E4: A causative factor and therapeutic target in neuropathology, including Alzheimer's disease. 2006.2: 5644–5651,
44. Sánchez-de-la-Torre M, Barbé F. Personalized medicine in sleep apnea: Towards a new paradigm of comprehensive disease management. *Med Clin (Brac)* 2016; 147:444-446.